N° D'ORDRE
57

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Raymond PAUTRIZEL

LICENCIÉ ÈS SCIENCES - PHARMACIEN

CHARGÉ DE COURS ET CHEF DE TRAVAUX PRATIQUES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à BASSE-TERRE (Guadeloupe), le 3 Juin 1916

1re **Thèse.** — RECHERCHES SUR LA GENÈSE ET LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS.

2e **Thèse.** — LA CULTURE DES ENTAMŒBA PARASITES DE L'INTESTIN DE L'HOMME.

Soutenues le 10 Juin 1948, devant la Commission d'Examen.

Président ..... M. GENEVOIS, professeur.

Examinateurs... MM. AVEL, professeur.
DAVID, professeur.
TAYEAU, professeur agrégé à la Faculté de Médecine.

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1948

N° D'ORDRE
57

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Raymond PAUTRIZEL

LICENCIÉ ÈS SCIENCES - PHARMACIEN

CHARGÉ DE COURS ET CHEF DE TRAVAUX PRATIQUES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à BASSE-TERRE (Guadeloupe), le 3 Juin 1916

1re **Thèse.** — RECHERCHES SUR LA GENÈSE ET LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS.

2e **Thèse.** — LA CULTURE DES ENTAMŒBA PARASITES DE L'INTESTIN DE L'HOMME.

Soutenues le 10 Juin 1948, devant la Commission d'Examen.

Président ..... M. GENEVOIS, professeur.

Examinateurs... MM. AVEL, professeur.
DAVID, professeur.
TAYEAU, professeur agrégé à la Faculté de Médecine.

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1948

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

Doyen ..... BRUS

Doyens honoraires..
- PADÉ ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix.
- PICART ..... Membre de l'Institut.
- DUPONT ..... Directeur adjoint de l'Ecole Normale supérieure.
- CHAINE
- MERCIER

Professeurs honoraires .....
- PADÉ ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix.
- BOUNHIOL
- DEVAUX ..... Membre de l'Institut.
- DUPONT ..... Directeur adjoint de l'Ecole Normale supérieure.
- PICART ..... Membre de l'Institut.
- DAURE ..... Recteur de l'Académie de Caen.
- CHAINE
- MERCIER
- KASTLER ..... Professeur à la Sorbonne.

Professeurs .....
- DAGUIN ..... Géologie et Minéralogie.
- MILLOUX ..... Calcul infinitésimal.
- DANGEARD ..... Botanique.
- GENEVOIS ..... Chimie biologique et Physiologie végétale.
- CAU ..... Physique expérimentale.
- BRUS ..... Chimie.
- QUELET ..... Chimie organique.
- AVEL ..... Zoologie et Physiologie animale.
- MONDAIN-MONVAL Chimie minérale et Chimie physique.
- ROUSSET ..... Physique générale.
- ROGER ..... Mécanique rationnelle.
- DUFRESNOY .... Mathématiques générales.
- WEILL ..... Anatomie comparée et Embryogénie.

Professeurs sans chaire.....
- SERVANT ..... Physique.
- BOUNHIOL ..... Zoologie.
- PISOT ..... Calcul des probabilités.
- DAVID ..... Botanique.

Maîtres de conférences honoraires.
- ARRIVAUT
- DE PUYMALY

Maîtres de conférences .....
- GAY ..... Minéralogie.
- ALLARD ..... Chimie.
- SCHŒLLER ..... Géologie.
- MARROT ..... Mathématiques.
- GUIZONNIER .... Physique.

*Chargés de suppl*ee..
- RIBEREAU-GAYON Chimie biologique et Physiologie végétale.
- MEYNIEUX ..... Mathématiques générales.

Secrétaire ..... ARTIGUELONG

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

AVANT-PROPOS

Il nous est particulièrement agréable, au début de ce travail, de rendre hommage à ceux qui, à des titres variés, nous ont aidé dans sa réalisation.

Notre ami, le Professeur agrégé F. Tayeau, nous a inspiré le sujet de cette thèse puis nous a continuellement guidé et conseillé au cours de nos recherches. Nous avons eu la chance de trouver en lui un Maître qui, par son exemple, a su nous inculquer l'enthousiasme et le goût de la recherche scientifique. Au cours de notre travail, il ne nous a ménagé ni son temps, ni sa peine et nous a fait continuellement bénéficier de ses connaissances et de son expérience. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre amicale et profonde reconnaissance.

Notre camarade de laboratoire, le Docteur Eugène Neuzil, nous a bien souvent fait bénéficier de son remarquable sens critique; nous le remercions très vivement.

Notre reconnaissance s'adressera encore à M^lle^ Annie Bézian, pharmacien, à M^lle^ Rey, notre collaborateur technique, et à M. André Cuny, étudiant, qui n'ont pas hésité à consacrer beaucoup de leur temps pour nous aider à mener à bonne fin certaines expériences irréalisables par une seule personne.

Notre Président de thèse, M. le Professeur Genevois, nous a très aimablement accueilli lorsque nous lui avons apporté notre manuscrit. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos respectueux sentiments.

Nous désirons associer encore dans cet hommage de gratitude ceux de nos Maîtres qui ont contribué à notre formation.

MM. les Professeurs Henri et Roger Mandoul nous ont initié aux techniques parasitologiques et nous ont fait bien souvent profiter de leur érudition. Nous sommes heureux de leur adresser notre respectueux souvenir.

M. le Professeur Chelle n'a jamais cessé de nous conseiller. Son affectueuse sollicitude à notre égard représente pour nous le meilleur des encouragements. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

A notre Maître, M. le Professeur Sigalas, nous devons notre formation. Dès le début de nos études, il a bien voulu s'intéresser à nous. Il nous a vivement encouragé, il y a déjà quelques années, à suivre l'évolution de la parasitologie moderne, et nous a montré tout le bénéfice que la thérapeutique et la médecine pourraient tirer de l'immunité parasitaire. C'est sous son impulsion que nous avons désiré orienter notre activité vers l'immunologie générale. Nous espérons que les connaissances que nous avons acquises au cours de nos recherches nous permettront dans l'avenir de les transposer dans le domaine de la parasitologie. Au cours de nos expériences qui, tout au début, nous avaient parfois apporté des résultats peu concluants, nous avons été heureux de trouver toujours auprès de nous notre Maître, qui a su nous redonner la confiance et la persévérance qui nous auraient quelquefois fait défaut.

A M. le Professeur Sigalas, vis-à-vis de qui nous avons contracté une immense dette de reconnaissance, nous sommes heureux de dédier ce modeste travail, en l'assurant de notre respectueux attachement et de notre profonde gratitude.

RECHERCHES SUR LA GENÈSE ET LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS

INTRODUCTION

Il est bien connu et depuis très longtemps que certaines maladies n'apparaissent qu'exceptionnellement deux fois chez le même individu. Cette constatation met bien en évidence les phénomènes d'immunité, mais il fallut cependant attendre la fin du siècle dernier et les géniales recherches de PASTEUR pour qu'en soient jetées les bases.

L'immunité constitue un phénomène très général, c'est pour un être vivant la « réaction vis-à-vis des causes perturbatrices de l'espèce » (BORDET). Appliquée au début aux maladies infectieuses, elle s'est trouvée tributaire des bactériologistes qui, suivant l'expression de BORDET, en avaient même « confisqué le terme ». L'immunité vis-à-vis des bactéries put rapidement être mise en évidence grâce à des phénomènes assez spectaculaires. Mais, lorsque l'on étudia le mécanisme de ces phénomènes, on s'aperçut que ces derniers présentaient un caractère beaucoup plus général qu'on ne l'avait cru d'abord, et l'on put alors parler d'immunité vis-à-vis de certains parasites et même de principes immédiats.

Afin de préciser toutes ces nouvelles notions, il fallut avoir recours à diverses disciplines : physiologie, biochimie, biophysique, mais l'extension prise par les recherches dans ce domaine ont fini par élever l'étude de l'immunité au rang d'une science nouvelle : l'immunologie.

Après avoir ainsi eu recours aux diverses sciences pour étayer ses bases, l'immunité, par un juste retour des choses, a

rendu à ces sciences de sérieux services : elle a souvent permis, grâce à la finesse et à la précision de ses méthodes, de résoudre des problèmes apparentés à d'autres domaines.

On aurait pu penser que l'essor de la chimiothérapie allait quelque peu diminuer son intérêt. Mais il n'en a pas été ainsi, les médicaments chimiques n'ayant pas toujours donné les résultats attendus. De plus, certains micro-organismes parviennent à la longue à s'adapter à ces substances. Enfin, les récentes découvertes concernant le mécanisme d'élaboration des anticorps ont permis de comprendre tout le bénéfice que l'on pouvait tirer des moyens naturels de défense. Et TAYLOR écrivait dernièrement, à propos de la prophylaxie des helminthiases, que « l'on devrait dans l'avenir diriger ses efforts vers l'étude de méthodes grâce auxquelles la résistance de l'hôte est stimulée et maintenue à son maximum de puissance » [318]. Cette remarque de TAYLOR montre encore que le facteur immunité est susceptible d'intervenir dans l'évolution de maladies dues aux parasites, alors que pendant longtemps, il n'était utilisé que dans les affections dues aux bactéries et aux virus. Si l'intervention de l'immunité dans les maladies parasitaires avait été pendant longtemps négligée, c'est peut-être en raison du taux peu élevé d'anticorps que l'on observe dans ces maladies, et qu'à la suite de techniques nouvelles on est parvenu à mettre en évidence.

Sur la cause de ce taux peu élevé, on est fort peu renseigné; il paraît plausible de penser que le facteur anémie, si souvent observé dans les affections dues aux parasites, doit entrer en ligne de compte. On sait d'ailleurs qu'un animal anémié voit diminuer sa résistance aux agents infectieux. Cette diminution, cependant, peut avoir diverses causes, parmi lesquelles un ralentissement dans la « capacité productive » des anticorps.

Il nous a semblé intéressant d'étudier d'une façon très générale le rôle que ce facteur pouvait jouer dans la genèse des anticorps, et l'intérêt qu'il présente non seulement dans le mécanisme de leur formation, mais encore en sérothérapie. Au cours de notre étude, mettant en jeu l'anémie expérimentale, nous avons été amené à provoquer des modifications parfois profondes parmi les constituants plasmatiques. C'est ainsi que, mettant en jeu diverses techniques physiologiques, nous sommes parvenu à ralentir ou à intensifier l'activité de certains organes.

Ces modifications ne risquaient-elles pas de provoquer des perturbations sur la quantité et la qualité des anticorps produits ? C'est ce que nous avons cherché à savoir dans la partie expérimentale de notre travail.

Désirant expliquer les modifications observées, nous avons essayé de faire varier l'affinité des anticorps pour les antigènes correspondants en utilisant certains réactifs réagissant sur les protéides. Cette étude fait l'objet de la dernière partie de notre thèse.

PREMIÈRE PARTIE

NOTIONS FONDAMENTALES SUR LES ANTICORPS

CHAPITRE PREMIER

LES ANTICORPS DANS L'IMMUNITÉ

L'immunité, ensemble de fonctions physiologiques souvent capable d'assurer la protection, comprend notamment la phagocytose et l'élaboration des anticorps.

METCHNIKOFF a étudié le phénomène de la digestion intracellulaire dans la série des êtres vivants. Il a montré que la phagocytose représente primitivement un phénomène de nutrition et qu'elle se retrouve dans toute la série zoologique.

L'élaboration des anticorps est aussi un phénomène très général; on sait à présent que les globulines normales comme les globulines-anticorps se trouvent élaborées par les mêmes cellules (*) chez certains Vertébrés. La sécrétion des anticorps a pu être mise également en évidence, non seulement chez les Vertébrés, mais aussi chez les Invertébrés [174].

Au début, les anticorps ont été définis par certaines propriétés du sang. Celles-ci peuvent parfois exister naturellement (immunité naturelle) ou bien apparaître au cours de l'immunisation (immunité acquise) sous l'influence d'antigènes (**).

(*) Voir plus loin, page 21.

(**) On réunit sous l'appellation commune d'*antigènes* toutes les substances qui, injectées à l'organisme, y sollicitent l'élaboration des anticorps.

Les antigènes se trouvent représentés par des éléments figurés ou amorphes, généralement protéidiques, qui très fréquemment ne manifestent leur qualité antigénique qu'à la condition d'être étrangers à l'organisme auquel on les injecte. La plupart des bons antigènes sont des protéines.

Le mot antigène présente un double sens : substance qui provoque la formation d'anticorps et substance qui réagit avec un anticorps. Une substance peut ne présenter que le second caractère; LANDSTEINER a créé pour elles le mot *haptène*. Les haptènes sont constitués par des substances variées (polyholosides, lipides, etc.) qui réagissent spécifiquement avec

Elles peuvent être mises en évidence de diverses façons : neutralisation de toxines, précipitations de toxines ou autres substances, actions variées sur les bactéries, pouvant aller jusqu'à leur lyse.

Par la suite, ces diverses propriétés ont pu être rattachées à des entités que l'on groupe aujourd'hui sous la désignation générale d'*anticorps*.

La production d'anticorps constitue l'un des traits essentiels de l'immunité. Les anticorps sont spécifiques et possèdent un caractère fondamental : celui de se combiner à l'antigène correspondant qu'ils impressionnent spécifiquement.

Toutes ces propriétés, par lesquelles les anticorps sont connus, les ont fait désigner par des noms variés qui ne constituent en somme que des « étiquettes commodes ». Nous savons qu'au fond tous ces anticorps se ressemblent par leur nature et par leur mode d'action.

I. — LES ANTITOXINES

Les phénomènes de neutralisation vis-à-vis des toxines se trouvent liés à l'apparition dans les humeurs, et en particulier dans le sang, de substances solubles, les *antitoxines*. La toxine, qui réagit avec le sérum antitoxique correspondant, ne se

---

les antisérums appropriés. L'emploi du mot *haptène* permet d'éviter beaucoup de confusions résultant des deux sens du mot antigène.

Les haptènes combinés à des protéides constituent un matériel antigénique qui, injecté à un animal, provoque la formation des anticorps. Les anticorps réagissent non seulement avec le complexe haptène-protéide, mais aussi avec le haptène seul.

Certains polyholosides [156] peuvent être considérés comme de vrais antigènes; c'est ainsi que Campbell [53] a isolé d'*Ascaris suum* du Porc un polyholoside exempt de substances azotées et jouissant de propriétés antigéniques; on a pu d'ailleurs en isoler à partir de différentes bactéries. Il est intéressant de noter que Day [77] a même pu isoler d'un pneumocoque un antigène somatique, spécifique d'espèce, ayant un fort pouvoir immunisant. Il a également isolé de la même bactérie une autre substance qui s'oppose à l'immunisation contre le facteur spécifique d'espèce et qui possède vraisemblablement une nature protéidique. Donc, dans certains cas, la « concurrence antigénique » effacerait le pouvoir immunisant de substances non protéidiques. On connaît peu de choses sur les conditions du pouvoir antigénique. Pour qu'une substance soit antigénique, il suffit vraisemblablement qu'elle ait un poids moléculaire élevé et qu'elle soit étrangère à l'animal. La spécificité de l'antigène se trouve étroitement liée à sa structure chimique et plus particulièrement à certaines fonctions polaires, les *groupements déterminants*, dont la disposition spatiale forme un *motif spécifique* qui donne à l'antigène son individualité immunologique.

On trouvera dans certaines revues générales [211, 235, 32] des détails plus précis sur les antigènes.

trouve pas à proprement parler détruite; sa molécule ne subit pas de désintégration, elle est simplement incorporée dans un complexe et enrobée dans une gangue isolante constituée par des matériaux propres au sérum auxquels on donne le nom d'antitoxine.

II. — LES AGGLUTININES

Le sérum peut contenir aussi des agglutinines. Si l'on ajoute à une suspension de microbes une dose même très faible de sérum provenant d'un animal solidement vacciné contre ces germes, l'agglutination des bactéries se produit; les microbes, au lieu de rester disséminés dans le liquide et de lui communiquer ainsi un trouble homogène, s'agglomèrent en paquets, puis en flocons, qui gagnent peu à peu le fond du vase. L'agglutination ne compromet pas la vitalité des germes.

III. — LES SENSIBILISATRICES

Bordet a désigné sous le nom de sensibilisatrices les anticorps capables de rendre les microbes plus sensibles à l'action d'une substance particulière, facilement altérable; cette substance, que l'on nomme *alexine,* est douée envers les bactéries de tendances nocives. C'est grâce à la collaboration des sensibilisatrices spécifiques et de l'alexine que certaines bactéries subissent une altération très visible pouvant déterminer leur mort. Cette altération, appelée *bactériolyse,* a été mise en évidence par Pfeiffer dès 1894.

Les sensibilisatrices permettent la fixation de l'alexine, non seulement sur des éléments figurés comme les bactéries, mais encore sur des substances antigéniques solubles. Il se forme alors un complexe *antigène-sensibilisatrice-alexine.*

IV. — LES HÉMOLYSINES

Bordet [30] a montré que si l'on soumet un animal tel qu'un Cobaye à quelques injections de sang défibriné provenant d'une espèce différente, Lapin par exemple, le Cobaye ainsi traité produit bientôt dans son sérum un anticorps (hémolysine) impressionnant spécifiquement les globules rouges du Lapin.

Cet anticorps représente une sensibilisatrice entièrement comparable aux précédentes; elle communique, en effet, aux globules rouges l'aptitude à ressentir l'influence nocive de l'alexine. Dans ces conditions, les cellules sanguines se

détruisent; elles subissent l'hémolyse, phénomène comparable à la bactériolyse à laquelle nous avons fait précédemment allusion.

V. — LES PRÉCIPITINES

Certains principes microbiens, à l'état de solution sinon vraie, du moins apparente, se montrent susceptibles de se condenser en flocons sous l'influence d'un anticorps approprié. Comme les antitoxines, les agglutinines et les sensibilisatrices, ces anticorps précipitants présentent une spécificité marquée. Les animaux peuvent élaborer également des anticorps actifs sur des matériaux protéidiques provenant d'espèces différentes. Le Lapin, par exemple, auquel on injecte un sérum étranger (sérum de Cheval ou d'Homme), possédera dans son sang des substances capables de précipiter lorsqu'elles seront mises en présence d'une quantité convenable du sérum préalablement injecté.

Les diverses propriétés du sérum provenant donc des animaux immunisés (immunsérums) résultent de la réaction dirigée contre l'élément étranger (microbien ou animal, cellulaire ou amorphe) que l'on introduit dans l'organisme. L'immunité ne saurait s'obtenir immédiatement : le nombre de jours qu'elle requiert pour s'élever à son point culminant varie selon la matière antigénique mise en jeu et le degré de réceptivité initial de l'organisme.

Quant à la durée de l'immunité acquise, elle varie vraisemblablement avec l'énergie de la sollicitation à produire les anticorps (*). L'élément cellulaire énergiquement sollicité garde longtemps le « souvenir » de l'impression éprouvée et peut ainsi répondre plus aisément et de la même façon si l'occasion s'en présente par la suite. La crise une fois passée, la teneur du sérum en anticorps s'abaisse lentement et peut finalement rester très faible, l'appauvrissement s'avère d'ailleurs plus précoce et prononcé chez certains sujets que chez d'autres (**). Mais ce qui persiste bien davantage et intervient grandement

(*) Les techniques nouvelles d'utilisation des « éléments marqués » ont permis de montrer que la vie d'une molécule d'anticorps dans l'organisme est très restreinte, de l'ordre d'une quinzaine de jours (HEIDELBERGER et ses collaborateurs).

(**) Dans la plupart des cas d'immunité acquise incomplète (paludisme, tuberculose, syphilis, piroplasmoses), la persistance de la maladie confère à l'organisme une résistance fort appréciable à de nouvelles implantations du parasite de même espèce ou même d'espèce très voisine. Mais si finalement l'organisme parvient à se débarrasser des germes, la réceptivité réapparaît après un temps en général relativement bref. On exprime

pour communiquer à l'immunité acquise son caractère de permanence, c'est l'aptitude à reproduire promptement le travail sécrétoire accompli autrefois, sans qu'une rééducation laborieuse et nouvelle soit nécessaire (*).

Quand un immunsérum est transfusé à un animal (****), les anticorps disparaissent après trois semaines environ, cette durée varie suivant la quantité de sérum injecté et selon son titre en anticorps, elle dépend également du degré de parenté entre l'animal qui fournit le sérum et celui qui le reçoit. Cette notion apparaît nettement dans l'état d'immunité héréditaire, à laquelle s'est attaché Ehrlich : cet auteur a montré que les anticorps peuvent passer de la mère au fœtus par l'intermédiaire du placenta. Le rôle du père paraît nul, ce dernier ne lègue en effet à sa progéniture aucune immunité. La mère dispose encore d'un autre moyen pour transmettre les anticorps, le lait : l'importance de l'allaitement dans la transmission de l'immunité varie beaucoup suivant les espèces, les différences observées se trouvent liées à l'activité des sucs digestifs du nouveau-né, ceux-ci détruisant plus ou moins le caractère spécifique de l'anticorps administré. Dans un cas comme dans l'autre, l'immunité héréditaire n'est pas de longue durée; elle disparaît peu à peu au bout de trois mois en moyenne.

Si dans l'immunité naturelle (***) la phagocytose constitue le facteur essentiel, on ne peut cependant pas dénier toute importance à l'activité protectrice due aux *anticorps normaux* des humeurs. On entend par anticorps normaux ceux qui réagissent avec des antigènes vis-à-vis desquels l'hôte ne paraît pas avoir été en contact.

Dans tous les cas, qu'il s'agisse de l'immunité acquise (active ou passive) ou naturelle, le facteur humoral se trouve essentiellement représenté par les anticorps.

---

parfois ces faits en disant que les malades sont « prémunis » par la maladie contre les contaminations de même nature. Les termes « prémunir » et « prémunition » ne paraissent pas très heureux. Dans la prémunition, comme dans l'immunité, ce sont les mêmes fonctions qui interviennent, mais leur efficience varie avec la nature des agents pathogènes, selon que ceux-ci sont plus ou moins vulnérables ou que les moyens de défense ont été plus ou moins violemment sollicités.

(*) La vaccination contre les maladies infectieuses est justement basée sur ce caractère de permanence.

(**) C'est le principe de la sérothérapie.

(***) On ne saurait parler d'immunité naturelle chaque fois qu'un animal n'est pas réceptif à un agent pathogène donné. Si, dans quelques cas, les moyens de défense sont adaptés pour cette lutte spécifique, dans d'autres cas, l'agent pathogène ne trouve pas dans l'organisme qu'il a envahi des « métabolites » utiles à son développement (carence).

CHAPITRE II

NATURE DES ANTICORPS

Lorsqu'on eut constaté les effets antitoxiques, agglutinants, précipitants... des immunsérums, on s'empressa, pour la commodité du langage, de parler d'antitoxines, d'agglutinines, de précipitines, etc.; on s'habitua ainsi à l'idée que ces principes constituaient des entités différentes. Ehrlich leur attribuait d'ailleurs une structure moléculaire variable, selon qu'ils fonctionnaient comme antitoxines, agglutinines ou sensibilisatrices.

Dès 1910, Bordet [30] proposait au Congrès de Budapest la thèse de l'unité des anticorps; celle-ci trouva des confirmations péremptoires dans les découvertes ultérieures. « Par unité des anticorps, on entend que ceux-ci, quels qu'ils soient et quelles que soient aussi les manifestations auxquelles ils donnent lieu en présence des antigènes, sont tous du même type, sont construits sur le même plan, agissent semblablement, et se distinguent seulement par la spécificité, c'est-à-dire par l'électivité de leurs affinités respectives » (Bordet). Le caractère spécial de l'effet produit sur l'antigène dépend beaucoup plus des qualités propres à ce dernier que des propriétés de l'anticorps lui-même. Un même anticorps agissant sur un même antigène pourra, si celui-ci s'y prête, engendrer plusieurs effets différents. En principe, certains antigènes peuvent même s'unir aux anticorps correspondants sans que le complexe formé ne présente de manifestations apparentes et décelables par les techniques habituelles.

Depuis longtemps, on sait que les anticorps accompagnent les constituants protéidiques du sérum et même qu'ils se trouvent liés aux globulines. Les immunologistes admettent

d'ailleurs que les anticorps représentent des protéines pas très différentes des globulines normales (*).

L'étude de la nature des anticorps a porté tout d'abord sur leur stabilité. L'action de divers facteurs physiques (chaleur, étalement en lame mince...) ou de réactifs chimiques a montré que tous les facteurs agissant sur les protéines modifient en même temps les anticorps.

Par le fractionnement des protéines sériques (relargage), on a pu constater que les fractions actives se trouvent toujours parmi les globulines. Mais, l'activité spécifique pourrait être due à des impuretés non protéidiques adsorbées électivement sur ces protéines. L'isolement de la fraction active, soit par adsorption, soit encore par dissociation du complexe antigène-anticorps, a permis de constater que la propriété anticorps ne pouvait jamais se trouver dissociée de toute protéine. L'application de méthodes physiques modernes (ultrafiltration, diffusion, hypercentrifugation) a même permis d'affirmer que la propriété anticorps appartenait bien aux globulines elles-mêmes. L'électrophorèse a permis encore de préciser, pour chaque anticorps étudié, la fraction des globulines porteur de l'activité spécifique (**). « Tout semble en somme montrer que les anticorps sont simplement des globulines construites sur un plan légèrement différent du plan normal, les matériaux de construction étant les mêmes, c'est-à-dire les aminoacides habituels » (Machebœuf [211]).

On peut, dès maintenant, se demander avec Machebœuf « si les modifications de structure, que l'on est amené à admettre pour différencier les anticorps d'avec les globulines normales et pour expliquer leurs affinités spécifiques pour l'antigène, portent sur une partie importante de la molécule ou bien se localisent à une petite fraction de celle-ci ».

L'étude de la dégradation enzymatique des anticorps a permis de résoudre ce problème grâce à l'obtention d'une fraction cristallisée possédant toute l'activité anticorps. On a

---

(*) On pourra, avec fruit, se rapporter à une récente mise au point de Machebœuf sur la constitution des anticorps [211].

(**) Les précipitines du sérum antialbumine d'œuf se rassemblent dans la fraction γ des globulines (Tiselius et Kabat [323]). Les anticorps de Cheval autres que les antitoxines ne correspondent généralement pas à une fraction globulinique spéciale, mais accompagnent les globulines γ ou parfois les globulines β (Van der Scheer, Wickoff et Clarke [327]). Il existe même certains anticorps provoqués par l'injection de tuberculine qui se trouvent dans les globulines α (Seibert et Nelson [300]).

pu ainsi préparer des anticorps purifiés grâce à la protéolyse. Ceux-ci conservent leur activité spécifique bien qu'ils ne soient plus en réalité que des fragments de l'anticorps originel.

Northrop [241], mettant en jeu l'action de la trypsine et des sels sur le précipité toxine-antitoxine diphtérique (*), réussit à isoler une fraction protidique qui possède un pouvoir antitoxique très élevé. Il ne s'agit cependant pas encore d'une protéine strictement homogène, bien que l'ultracentrifugation et l'électrophorèse ne décèlent pas d'hétérogénéité. Ce n'est, en effet, qu'après fractionnement par relargage, au moyen de sulfate d'ammonium et dans des conditions déterminées, que Northrop a fini par obtenir une fraction qui se comporte comme une protéine pure. Celle-ci a pu être obtenue à l'état cristallisé et se montre immunologiquement extrêmement active. Le poids moléculaire de cette protéine n'est que de 90.000 [278], par conséquent très différent des masses particulaires déterminées pour les anticorps eux-mêmes tels qu'ils se trouvent dans le sérum de Cheval et qui atteignent 930.000.

En fractionnant encore par action enzymatique (papaïne et broméline) des anticorps humains de poids moléculaire d'environ 150.000, Petermann [254] a obtenu des fragments actifs dont la masse particulaire est seulement de 47.000.

On se trouve donc obligé d'admettre que les modifications de structure différenciant les anticorps d'avec les globulines normales se localisent à une portion relativement restreinte de leur molécule. C'est précisément dans cette partie qui a résisté à la protéolyse, que se trouvent réunis les *motifs spécifiques* (**). Chaque motif spécifique est caractérisé par un groupe d'atomes placés de telle manière qu'ils correspondent à un ensemble présentant la même configuration sur la surface de l'antigène. C'est par l'union de ces motifs spécifiques, si étroitement adaptés l'un à l'autre, que s'effectuerait la réaction antigène-anticorps.

On constate aussi généralement qu'un anticorps donné ne présente jamais d'affinité simultanée pour deux antigènes différents (Haurowitz et Schwerin [151]). Il semble donc qu'une

---

(*) Antitoxine diphtérique provenant d'immunsérum de Cheval.

(**) Le problème de la « valence » des anticorps, c'est-à-dire du nombre de *motifs spécifiques* qui existent par molécule de globuline-anticorps, a fait l'objet de nombreux travaux. Si, pour beaucoup d'immunologistes, les anticorps possèdent plusieurs groupements réactionnels par molécule [217, 304, 205, 84, 133], pour d'autres auteurs, au contraire, ils ne seraient qu'univalents [40, 168, 149].

molécule d'anticorps ne puisse posséder simultanément deux types d'empreintes spécifiques. Tout se passe donc comme si la molécule d'anticorps, malgré sa grande surface, ne pouvait recevoir qu'un seul type d'empreinte spécifique et cela sur une zone relativement petite de cette surface.

Nous voyons donc, en résumé, que les anticorps sont des globulines et que leur motif spécifique, auquel se trouvent liées leurs propriétés immunologiques, ne semble constituer qu'une partie relativement faible de la molécule protéidique.

CHAPITRE III

GENÈSE DES ANTICORPS

On conçoit fort bien que la formation des anticorps résulte de la réaction entre l'antigène et les organes chargés d'élaborer ces anticorps.

Quelle que soit la région où s'effectue l'introduction parentérale d'un antigène, des anticorps peuvent apparaître dans les humeurs et en particulier dans le sang. On a reconnu depuis longtemps que les immunsérums présentent une activité plus grande lorsque l'antigène a été injecté par voie intraveineuse ou intrapéritonéale que par voie sous-cutanée. On sait aussi que l'intervalle de temps ménagé entre les injections d'antigène influe sur la production des anticorps; quand on administre l'antigène en une seule fois ou bien en des injections se succédant à intervalles très courts, le rendement des anticorps est moins élevé (*). Il s'écoule habituellement un laps de temps de plusieurs jours entre l'introduction de l'antigène et l'apparition secondaire des anticorps dans la circulation (**). La concentration en anticorps diminue ensuite peu à peu et, après un temps assez long, devient presque nulle.

(*) Cela est valable pour les antigènes constitués par des grosses molécules. Loiseleur et Lévy [208] ont montré au contraire que les molécules organiques, de faible poids moléculaire, ne peuvent « imprimer à certaines protéines une empreinte permanente » qu'à condition d'être introduites dans l'organisme à une cadence suffisamment rapide et proportionnelle à leur diffusibilité et pendant une durée suffisante.

(**) L'apparition des anticorps dans les humeurs varie suivant la technique de détection employée. C'est la technique de viscosité qui permet de déceler le plus tôt l'apparition des anticorps (Loiseleur, Pérez et Sergent [209]).

I. — FACTEURS INFLUENÇANT L'ÉLABORATION DES ANTICORPS

Nous avons déjà noté précédemment qu'un animal, dont l'immunisation remonte à une date assez reculée et qui en conséquence ne possède plus dans son sang que des traces d'anticorps, peut en élaborer de nouveaux, dès qu'on lui administre une petite quantité du même antigène. Des auteurs ont observé à ce sujet que la sécrétion des anticorps peut aussi « se réveiller », lorsque l'on introduit un antigène différent. C'est ce qu'on nomme la *réaction anamnestique* (*).

Si l'on injecte en même temps à un même animal plusieurs antigènes, l'organisme s'avère capable de produire à la fois différents anticorps spécifiques; il semble même, dans certains cas, que l'association de plusieurs antigènes renforce la possibilité d'élaborer des anticorps : cette propriété est d'ailleurs utilisée dans la vaccination associée. Cette remarque ne saurait pourtant avoir un caractère général, car, dans d'autres cas, on peut observer le phénomène de « concurrence des antigènes » : Lewis a signalé à ce sujet que, si une petite quantité de protéine est administrée en même temps qu'une forte dose d'une autre protéine, l'organisme ne se trouve pas sensibilisé vis-à-vis de la première. D'autre part, Loiseleur et Lévy [208] ont remarqué que parfois l'injection de deux antigènes différents, même à des doses voisines, n'immunisait surtout l'animal que vis-à-vis de l'un d'eux.

Il semble donc que l'activité des cellules productrices d'anticorps soit accaparée par celui des deux antigènes introduit en plus grande quantité ou bien encore par celui qui présente le pouvoir antigénique le plus élevé.

L'élaboration des anticorps peut être exaltée par d'autres facteurs : certains auteurs, et en particulier Schroder [295], estiment que les animaux porteurs d'abcès spontanés élaborent mieux leurs anticorps. Ramon [265], profitant de cette observation, inocule en même temps que l'antigène des *substances*

(*) La *réaction anamnestique* fait vraisemblablement partie intégrante du « syndrome général d'adaptation » de Selye [301]. Comme nous aurons l'occasion de le voir plus loin (page 26), Dougherty, Chase et White [337, 88, 89] ont montré que c'était le même mécanisme hormonal qui provoquait et la libération des anticorps et les différentes manifestations du « syndrome général d'adaptation ».

adjuvantes comme le tapioca ou le précipité calcique qui ont pour but d'exalter la réaction inflammatoire tout comme l'abcès spontané et d'élever aussi corrélativement la teneur du sérum en anticorps. L'étude des substances adjuvantes a intéressé beaucoup de chercheurs, et des substances variées ont fait l'objet d'études : alun de potassium, tanin [188], soufre [176], gel d'alumine [179], latex d'*Hevea brasiliensis* [180, 178, 268], huile de vaseline, lanoline [72], etc. Toutes ces substances agiraient surtout en permettant à l'antigène d'*impressionner* davantage les cellules chargées d'élaborer les anticorps.

A côté des substances adjuvantes qui se montrent capables de favoriser la production des anticorps et qui peuvent agir en exaltant le pouvoir antigénique, il convient de faire une place toute spéciale à une série de facteurs qui paraissent plutôt porter leur action sur l'état général de l'animal et ainsi sur la « capacité productrice » de ce dernier dans l'élaboration de ses anticorps.

Parmi ces facteurs, citons diverses substances chimiques ou biologiques comme les sels de fer [175], l'arséniate de potassium [175], les extraits de rate [26, 27] qui, on le sait, agissent sur l'hématopoïèse; signalons encore la transfusion sanguine, le régime alimentaire [243, 242, 182, 54], des hormones comme l'œstrone [142], l'action des rayons X [164, 233], etc.

La connaissance de tous ces faits permet de mieux comprendre comment les chercheurs se sont trouvés amenés à essayer de préciser le lieu de formation des anticorps.

II. — ORGANES FORMATEURS

Les recherches de Metchnikoff sur la phagocytose ayant mis en évidence le pouvoir que possèdent certaines cellules (phagocytes) de digérer les bactéries après les avoir englobées, on avait pensé que ces mêmes cellules produisaient les anticorps ou bien modifiaient les antigènes, afin de leur permettre de mieux agir sur d'autres cellules des organes hématopoïétiques. Cette seconde éventualité trouvait déjà, dans la vieille observation de Pfeiffer et Marx, des arguments en sa faveur; ces auteurs avaient, en effet, noté que si l'on injecte sous la peau de Lapins neufs des vibrions cholériques tués, l'apparition d'anticorps était plus précoce dans la rate, la moelle osseuse et les ganglions abdominaux que dans le sang. Les anticorps n'apparaissent dans le sang que secondairement,

Ces faits furent encore confirmés par la suite par les recherches de Wassermann et Takaki, Detredeutsch, Castellani.

Ces premiers essais réalisés *in vivo* reçurent une nouvelle confirmation : Carrel et Ingebrigtsen ont même montré que des cultures de tissus provenant d'organes hématopoïétiques se montraient capables, sous l'influence d'antigènes, de donner naissance aux anticorps correspondants.

L'individualisation du système réticulo-endothélial (d'Aschoff [1924]), présent dans tous les organes hématopoïétiques, fit tout de suite penser que ce système, par ses éléments, devait constituer le lieu de formation des anticorps. Cette conception devint, par la suite, d'autant plus plausible que Sabin [281], injectant à un animal des azoprotéines fortement colorées, put suivre la destinée de ces dernières : cet auteur avait noté, entre autres choses, qu'à un moment donné certaines cellules du S. R. E., remplies de l'azoprotéine injectée, « s'exfoliaient » et que les parties ainsi détachées venaient se dissoudre dans le plasma ambiant. Or, ce phénomène coïncidait justement avec l'apparition des anticorps dans les humeurs.

Cependant, certains essais de « blocage » du S. R. E. (injection d'encre de Chine, de trypan bleu, de carmin, etc.) chez l'animal en cours d'immunisation ne constituaient pas, comme on aurait pu s'y attendre, une nette confirmation des expériences de Sabin : les résultats obtenus par les divers auteurs se sont montrés inconstants et confus. Il est vrai qu'il s'avère bien difficile d'obtenir une inhibition absolue du S. R. E., et même l'obtiendrait-on qu'une prolifération réactionnelle des cellules de ce système se produirait immédiatement, venant ainsi troubler l'interprétation du phénomène.

Tandis que semblait se préciser le rôle du S. R. E., certains auteurs ne manquaient pas de faire remarquer que l'administration de substances adjuvantes auxquelles nous avons fait précédemment allusion provoquait de la leucocytose avec éosinophilie; ils se demandaient donc si, en réalité, les éosinophiles ne jouaient pas le rôle essentiel dans la production des anticorps.

C'est ainsi que Lemétayer [199, 200] s'est attaché à préciser les rapports entre l'éosinophilie et le titre en anticorps, mais ses expériences ayant montré qu'il s'agissait de deux phénomènes différents, l'étude des éosinophiles dans la production des anticorps fut abandonnée.

Toutes ces expériences avaient ainsi ouvert la voie à l'étude

du lieu de production des anticorps, mais aucune précision n'avait encore été donnée. Il n'était pas obligatoire que les cellules phagocytaires fussent en même temps productrices d'anticorps; aussi, certains auteurs portèrent-ils leur attention sur les leucocytes dénués de pouvoir phagocytaire, c'est-à-dire les lymphocytes; ces derniers, on le sait depuis les recherches de Maximow [224, 225], interviennent d'ailleurs également dans le phénomène d'inflammation. Ces auteurs (Watson [333], Bloom [22], Taliaferro et Sarles [307], Loosli [210], Rey [273]) arrivèrent même à montrer que les organes lymphoïdes devaient être considérés comme une réserve tissulaire capable de fournir, au cours des besoins dus aux phénomènes d'immunité, un excès de lymphocytes qui pourraient se transformer en macrophages; ces derniers s'opposant à l'envahissement de l'organisme par les antigènes figurés, les lymphocytes se trouveraient donc à l'origine de certaines cellules phagocytaires et participeraient ainsi aux phénomènes d'immunité. Certains chercheurs sont même allés plus loin et ont admis que les lymphocytes se trouvaient à l'origine de l'élaboration des anticorps, grâce à des expériences mettant en œuvre certains facteurs inhibant ou exaltant l'activité du tissu lymphoïde : c'est ainsi que Hektœn [164] puis plus tard Murphy et Sturm [233] ont pu montrer que les rayons X, qui présentent une action destructive vis-à-vis du tissu lymphoïde, amenaient une diminution dans la production des anticorps; au contraire, l'accroissement de l'activité de ce même tissu provoquée par la chaleur sèche coïncide avec une augmentation des anticorps. Se basant sur cette série de recherches, Bunting [51] avait échafaudé une théorie sur l'origine lymphocytaire des anticorps. Cette théorie reçut, par les travaux de Meyer et Lowenthal [226], de nouveaux arguments favorables : ces auteurs montraient qu'*in vitro* des cultures réalisées à partir des coupes de ganglions lymphatiques et de taches laiteuses épiploïdes du Lapin se montraient capables d'élaborer des agglutinines.

Malgré toutes ces expériences, la plupart des immunologistes restaient fidèles à la théorie considérant le S. R. E. comme le siège de la genèse des anticorps; ils considéraient que les agglutinines produites par les coupes de tissus lymphoïdes provenaient en réalité des éléments réticulo-endothéliaux que l'on rencontre toujours dans les organes hématopoïétiques.

Deux théories s'affrontaient donc sur le lieu de production des anticorps.

De nouvelles séries de recherches vinrent alors apporter quelques éclaircissements dans ce domaine. Mac Master, Hudack [219] et Kidd [220] ont précisé tout d'abord que les ganglions lymphatiques les plus proches du lieu d'inoculation de l'antigène élaboraient les premiers des anticorps. Peu après, Ehrich et Harris [96] mettaient bien en évidence le fait que ces mêmes ganglions présentaient une hyperplasie importante et libéraient dans leurs vaisseaux efférents des lymphocytes en abondance. D'autre part, les anticorps apparaissaient plus précocement dans le vaisseau efférent que dans le vaisseau afférent et dans le sang. Enfin, les mêmes auteurs [147] montraient encore que, toutes proportions gardées, les lymphocytes étaient beaucoup plus riches en anticorps que le plasma lymphatique dans lequel ils baignaient. Ehrich et Harris et leurs collaborateurs [147] ne manquaient de faire remarquer que leur observation ne constituait pas un argument décisif en faveur de l'origine lymphocytaire des anticorps; ces derniers auraient pu en effet être captés du milieu ambiant par les lymphocytes. Dans une nouvelle série de recherches, les mêmes auteurs montraient qu'il n'en était rien : si, en effet, on recueille les lymphocytes de la lymphe efférente riches en anticorps et si, après les avoir lavés, on les place dans un plasma privé d'anticorps, on constate que ce dernier s'enrichit en anticorps aux dépens du lymphocyte; si, d'autre part, on place les lymphocytes d'un animal non immunisé dans un plasma riche en anticorps, ceux-ci ne sont pas captés par les lymphocytes. Les échanges d'anticorps entre les cellules et le plasma s'effectuent donc dans un seul sens : celui qui correspond à la sortie des anticorps des cellules. On peut donc conclure que, dans les expériences précédentes, des anticorps étaient bien produits par les lymphocytes.

Cette origine lymphocytaire des anticorps a trouvé dans les expériences de White, Dougherty et Chase [337, 88] une nouvelle confirmation : ces auteurs ont pu identifier des anticorps dans l'extrait de tissu lymphoïde provenant d'animaux immunisés; dans celui d'animaux normaux, ils trouvaient des γ globulines qui, on le sait, constituent souvent le support de l'activité immunologique.

A la suite de toutes leurs recherches et des travaux antérieurs, Ehrich et Harris [97] supposent finalement que les bactéries chargées de leurs antigènes et les cellules étrangères sont capturées et phagocytées par les polynucléaires et les

éléments du S.R.E.; les antigènes libres, bactériens ou autres, sont fixés par colloïdopexie par les éléments réticulo-endothéliaux : les antigènes libéreraient des substances antigéniquement actives qui pourraient être reprises par les lymphocytes dans l'intimité desquels ils président à l'élaboration des anticorps correspondants. On sait que les lymphocytes au cytoplasme si restreint ne montrent ni pouvoir phagocytaire marqué, ni pouvoir colloïdopexique appréciable (*).

Cette conception devait être par la suite vérifiée par les faits. Les mêmes auteurs [146] injectaient sous la peau du Lapin des éléments figurés (bacilles de Flexner ou bien hématies de Mouton); ils constataient alors, après un certain temps, l'apparition de substances antigéniques provenant de ces éléments figurés dans le vaisseau lymphatique afférent du ganglion le plus proche. Les substances antigéniques avaient été libérées des antigènes figurés par les cellules microphages et macrophages. Ces mêmes substances antigéniques se trouvaient mises en évidence, mais seulement un peu plus tard, dans le ganglion lui-même puis dans le vaisseau efférent. Par la suite, on observait le même phénomène pour des ganglions plus éloignés du lieu d'inoculation. Ce n'est que plus tard, comme nous l'avons signalé ailleurs, qu'on peut noter l'apparition des anticorps.

Il semble donc bien établi que les antigènes, pour pouvoir « impressionner » les cellules formatrices d'anticorps, doivent préalablement subir des transformations. Ces dernières seraient assurées par les phagocytes (divers leucocytes, éléments du S.R.E.). C'est alors qu'interviendraient les lymphocytes qui, impressionnés par ces antigènes transformés, pourraient élaborer les anticorps.

Tout récemment (1948), Delaunay (A.), Lebrun et Delaunay (M.) [82] ont pu d'ailleurs, grâce à l'examen histologique d'organes lymphoïdes prélevés sur des Cobayes ou des Lapins soumis à une immunisation intensive, découvrir d'importantes altérations, mettant bien en évidence l'activité de ces lymphocytes dans la production des anticorps.

Les lymphocytes sont-ils les seules cellules capables d'élaborer des anticorps ?

Si l'on en croit les toutes récentes recherches de Bjorneboe, Gormen et Lundquist [20], d'une part, et celles de Fagraeus [101], d'autre part, il semble que non : ces auteurs sont

(*) D'après Boivin et Delaunay [25].

parvenus à montrer, en effet, grâce à des essais histophysiologiques, que les plasmocytes (« plasma-cells », « plasmazellen ») peuvent, eux-aussi, sécréter des anticorps (*).

Les rapports histologiques qui semblent exister entre lymphocytes et plasmocytes pouvaient d'ailleurs laisser soupçonner cette constatation.

Le problème du lieu de formation des anticorps, qui il y a seulement quelques années paraissait insoluble, est entré dans une phase nouvelle. Les recherches effectuées dans ce domaine sont en pleine évolution et laissent présager, dans un avenir prochain, des recherches d'un intérêt pratique considérable.

III. — MÉCANISME DE FORMATION

Un certain nombre d'hypothèses ont tenté d'expliquer ce mécanisme. Certaines, comme celles de Buchner [49] et d'Ehrlich [98], ne présentent qu'un intérêt historique (**).

Les théories nouvelles tiennent compte de la nature globulinique des anticorps. Pour Breinl et Haurowitz [45], les cellules chargées de la synthèse des sérum globulines subi-

---

(*) Il nous paraît intéressant d'établir un rapport entre cette constatation et la naturé variée des divers anticorps.

Dans les essais auxquels nous avons fait allusion, et qui ont nécessité la mise en jeu de techniques extrêmement délicates, le problème du lieu de formation des anticorps a souvent été envisagé d'un point de vue très général. Mais il paraît très plausible d'admettre que l'organisme, dont la spécificité d'action est parfois si remarquable, possède non seulement des types de phagocytes appropriés à la transformation de chaque groupe d'antigènes, mais encore des cellules destinées à l'élaboration d'anticorps variés. Cette conception trouve déjà un argument dans la phagocytose : on sait, en effet, que les polynucléaires ou microphages s'attaquent principalement aux bactéries, tandis que les autres phagocytes (mononucléaires et éléments du S. R. E.) se chargent surtout de la lyse de cellules antigènes plus volumineuses (hématies, parasites). Donc, nous voyons déjà, dans le premier stade de la physiologie de l'immunité, s'individualiser une spécificité d'action des phagocytes.

Il est fort possible que le second stade ait, lui aussi, des cellules électives dans l'élaboration des anticorps suivant le type de l'antigène mis en jeu. Ces cellules pourraient, dans certains cas, être les plasmocytes; dans d'autres cas, les lymphocytes ou même d'autres cellules dont l'action n'aurait pas encore été mise en évidence. Ces diverses cellules produiraient donc des anticorps non seulement différents au point de vue immunologique, mais encore peut-être au point de vue physicochimique. Or, on sait que les divers anticorps ne se trouvent pas toujours dans les mêmes fractions globuliniques, parfois il s'agit des γ globulines, parfois des α ou β globulines. Ces fractions ne proviendraient-elles pas de cellules différentes ?

(**) Voir Neuzil [235].

raient, sous l'action de l'antigène, des modifications de structure considérables. En l'absence d'antigène, les surfaces spécifiques de ces cellules sont constituées par les résidus d'aminoacides des protéines cellulaires, groupées d'une manière caractéristique de l'espèce animale envisagée. Cette architecture spécifique influerait sur l'arrangement et l'orientation des aminoacides, au cours même de la synthèse, sinon de la molécule de globuline elle-même, tout au moins de ses chaînons élémentaires. Finalement, la globuline aura une structure bien déterminée.

Si un antigène se trouve adsorbé sur la surface de ces cellules, il risque de masquer certaines fonctions et d'en apporter de nouvelles : l'architecture cellulaire se trouvera de ce fait modifiée. La globuline-anticorps synthétisée par cette cellule sera différente de la globuline normale, car les aminoacides constitutifs subiront, au cours de la synthèse, l'influence des nouvelles surfaces spécifiques. La globuline ainsi formée aura tendance à s'unir mieux avec l'antigène que d'autres globulines. Cette hypothèse rend compte de l'existence d'une variété infinie d'anticorps.

Se basant sur le rôle joué par les acides nucléiques dans la synthèse des protéides [59, 60, 135, 136], Macheboeuf [211] pense même que, grâce à leurs fonctions polaires, les acides nucléiques subissent des déformations sous l'influence de l'antigène. Ces déformations se refléteraient ensuite sur la globuline-anticorps synthétisée.

Si l'on pense, comme certains auteurs, que les protéines sériques ne se trouvent pas toujours sous la forme de chaînes polypeptidiques déroulées, mais plutôt en des molécules ovoïdes allongées, il faut admettre que le chaînon polypeptidique élémentaire se pelotonne [211] ou s'enroule en spirale (Bressler et Talmund [47]) quand il a abandonné son moule; on peut envisager alors la formation de l'empreinte de l'antigène sur l'anticorps au cours de l'enroulement terminal [211, 86].

Mais, si l'on considère la molécule de globuline comme un agrégat de monomères, on peut admettre dans ce cas, avec Pauling [249], l'hypothèse du moulage au cours de la polymérisation : cet auteur a réussi, en effet, à faire acquérir *in vitro*, à des globulines, une certaine affinité pour des matières colorantes en faisant subir à ces globulines des modifications partielles en présence de ces colorants. Dans ces conditions, la globuline modifiée se montre susceptible de donner, avec les colorants mis en jeu, des complexes insolubles.

Malgré certaines objections (*), toutes ces théories, basées sur le moulage des globulines, satisfont l'esprit; elles concordent en général avec de nombreux faits expérimentaux.

IV. — MÉCANISME DE LIBÉRATION

Quelle que soit la théorie adoptée en ce qui concerne la formation des anticorps, il reste un problème à résoudre : leur libération.

Dès 1942, Machebœuf, Viscontini et Raynaud [215] avaient cherché à étudier cette question et s'étaient demandés si, en vertu de la loi d'action de masse, les nouveaux aminoacides, arrivant dans la cellule, ne provoqueraient le départ de ceux qui s'y trouvaient auparavant. Les expériences réalisées *in vitro* par ces auteurs n'ont pas confirmé leur conception.

Etudiant les rapports existant entre certains états hormonaux et le titre en anticorps chez un animal immunisé, White, Dougherty et Chase [337, 338, 88, 89, 90] ont pu mettre en évidence le mécanisme de libération des anticorps; ces auteurs ont noté que l'injection d'hormone corticotrope de la glande pituitaire, ou bien de substances stéroïdes de cortex surrénal, amenait chez l'animal normal une augmentation des γ globulines et, chez l'animal immunisé, une augmentation des anticorps. Ces auteurs montraient en outre qu'on pouvait observer en même temps une involution du tissu lymphoïde. La libération des anticorps se trouvait donc liée à un état hormonal de l'animal.

Voulant pousser plus loin leurs investigations, les mêmes auteurs remarquent que, chez l'animal surrénalectomisé, l'injection d'hormone corticotrope se montre inefficace, tandis que l'injection d'extrait corticosurrénal amène toujours une augmentation du titre en anticorps. Ils concluent de leurs recherches que les hormones corticosurrénales doivent agir directement sur la libération des anticorps, tandis que l'hormone corticotrope n'agirait qu'indirectement et probablement par l'intermédiaire du cortex surrénal.

Cette libération des γ globulines anticorps ou non (**) se

(*) Voir Sandor (285).

(**) Selon Grabar [133], toutes les globulines seraient des anticorps dont les antigènes correspondants n'auraient pas toujours été mis en évidence. Il nous paraît intéressant à ce sujet de remarquer que, chez le Veau nouveau-né, on trouve une globuline un peu particulière, de

produirait d'une façon continue sous l'influence hormonale. Mais, dans certaines circonstances, le processus s'amplifie sous l'action de certains *stimuli* (*). Nous en avons eu un exemple avec la *réaction anamnestique* caractérisée par l'augmentation du titre en anticorps sous l'influence d'un antigène différent (stimulus d'alarme) de celui qui correspond à l'anticorps.

Nombreuses sont les applications qui peuvent résulter de ces recherches : chez un sujet en proie à l'infection, on pourrait peut-être, au moment opportun, provoquer une libération massive d'anticorps par une injection d'extrait pituitaire ou d'hormones corticosurrénales. Dans les instituts producteurs de sérums thérapeutiques, une injection des mêmes hormones faite juste avant la saignée permettrait alors d'obtenir un sérum bien plus riche en anticorps (Boivin et Delaunay [25]).

Tous les travaux exposés dans ce chapitre, et dont la plupart sont récents, ont permis d'expliquer un certain nombre de faits qui, jadis, avaient paru contradictoires.

---

poids moléculaire relativement bas, la *fétuine* (Pedersen [253]), qui disparaît au fur et à mesure que l'animal avance en âge pour faire place à des globulines normales. On peut penser que ces dernières se forment au fur et à mesure que l'animal prend contact avec les antigènes les plus variés.

(*) Nombreux sont les *stimuli d'alarme* qui augmentent le taux des anticorps dans le sérum d'animaux préalablement immunisés (Cannon [54]).

CHAPITRE IV

RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS

Les anticorps, qui, nous l'avons déjà signalé, appartiennent aux globulines, possèdent toutes les propriétés de ces protéides et, en outre, celle de pouvoir se combiner à l'antigène correspondant.

Le complexe (*) antigène-anticorps a pu, dans certains cas, être isolé. Dans ce complexe, on retrouve intacts les deux constituants qui paraissent, au cours de leur combinaison, n'avoir subi aucune modification.

Depuis Bordet [28], on considère que la réaction antigène-anticorps procède en deux temps :

1° Union simple de l'antigène à l'anticorps. Ce premier temps, qui est rapide, ne peut être mis en évidence qu'indirectement;

2° Réaction observable, conséquence de l'accolement : précipitation, agglutination, hémolyse, etc.; parfois elle peut faire défaut.

La distinction entre les deux phases de ce phénomène n'est cependant pas absolue; le plus souvent, la deuxième phase commence déjà, alors que la première n'est pas complètement terminée.

I. — PREMIÈRE PHASE

Combinaison antigène-anticorps

Grâce à une partie de sa molécule, le *motif spécifique*, l'anticorps, va réagir avec les *groupements déterminants* de l'antigène.

(*) Nous utilisons ici le terme *complexe* dans le sens le plus général, ne préjugeant en rien le mode de liaison entre les constituants.

Les deux molécules pourront être unies par des forces de types différents, classées en forces intermoléculaires fortes et forces intermoléculaires faibles.

Les premières sont représentées par des liaisons *hétéropolaires*, ce qui paraît plausible puisque le *motif spécifique* de l'anticorps est constitué par une « réplique électrique » des *groupements déterminants* de l'antigène.

Les secondes comprennent les forces de Van der Waals et la chélation (*).

La liaison entre l'antigène et l'anticorps sera d'autant plus solide que la spécificité réciproque sera plus étroite. On conçoit d'ailleurs que, si les surfaces s'adaptent bien, les molécules contracteront des liaisons énergétiquement fortes grâce aux forces de Van der Waals; si, de plus, les groupements polaires de deux molécules se trouvent disposés de telle façon que des pôles de signe opposé soient proches les uns des autres *(motif spécifique* et *groupement déterminant)*, l'énergie d'attraction des deux molécules risquera d'être plus grande encore.

L'énergie dégagée au cours de cette réaction, qui parfois a pu être évaluée [11, 43], montre que cette liaison est assez forte. Il s'avère cependant possible, avec des réactifs appropriés, de dissocier profondément le complexe et de récupérer au moins en partie l'anticorps.

Cette première phase peut être mise en évidence grâce à des mesures physiques (tension superficielle [6], viscosité [197, 209], indice de réfraction [102, 208]).

C'est cette phase qui se montre de beaucoup la plus spécifique.

II. — DEUXIÈME PHASE

Neutralisation, fixation de complément, bactériolyse, hémolyse, agglutination, précipitation

C'est le phénomène terminal, celui que l'on peut observer, qui suit l'union de l'antigène à l'anticorps. Cette deuxième phase dépend surtout de la nature de l'antigène (**). Sa spéci-

(*) Les liaisons par forces de Van der Waals sont dues à l'adsorption réciproque de fragments moléculaires identiques. On entend par liaison hydrogène ou chélation (Freymann [121], Sidgwick [303]) la liaison qui, dans l'aldéhyde salicylique par exemple, unit l'hydrogène du groupement phénol à l'oxygène de la fonction aldéhyde.

(**) Quelquefois la réaction ne dépasse pas la première phase. C'est ce qu'on observe avec certains haptènes (réaction d'inhibition) (Halban et

ficité semble souvent moins marquée que celle de la première phase.

a) *Neutralisation des toxines et des virus.* — Les antitoxines neutralisent les toxines en se combinant avec elles en proportions variables, déterminées par les quantités mises en présence. On ne sait pas encore si cette combinaison s'effectue aux dépens du « groupe toxique ». On sait simplement que, si l'on injecte à un animal un mélange de toxine et d'une quantité déterminée d'antitoxine correspondante, aucun trouble n'apparaît. C'est sur ce principe qu'est d'ailleurs basée la méthode de dosage *in vivo* d'Ehrlich. La toxine n'est cependant pas détruite, car on peut arriver à la récupérer, en partie tout au moins, la réaction n'étant pas quantativement réversible et dépendant surtout de la manière dont les deux constituants ont été mis en présence. Il convient à ce sujet de rappeler le phénomène de Danysz [75] : si, à un certain volume d'immunsérum, on ajoute en une seule fois une dose convenable de toxine, on obtient un mélange atoxique; mais si l'on recommence l'expérience en ajoutant la toxine par fraction, le mélange final peut présenter une certaine toxicité. La toxine aurait probablement la propriété de se combiner avec l'antitoxine en proportions multiples.

L'action curative *in vivo* d'une antitoxine peut se montrer différente de celle calculée : pour Kraus [189], d'ailleurs, il faut tenir compte, en plus du taux d'antitoxine dans un sérum, d'une autre caractéristique, l'*avidité*, qui influerait sur le degré de neutralisation. Pons [259] a pu modifier expérimentalement cette avidité de la toxine pour l'antitoxine. L'action du formol à faible dose sur l'antitoxine tétanique va permettre encore à cette dernière de s'unir et de neutraliser la toxine correspondante, puisque le mélange inoculé au Cobaye ne produit immédiatement aucune manifestation toxique. Mais, à partir du troisième jour, apparaissent brusquement des symptômes d'intoxication tétanique et, vingt-quatre heures après, l'animal meurt de tétanos généralisé. Le formol (aux doses employées par Pons) a bloqué certaines fonctions chimiques et a ainsi diminué « l'adhésivité » de l'antigène pour l'anticorps en favorisant par la suite la libération de la toxine.

La plupart de ces faits se sont trouvés confirmés par les

Landsteiner [144]). Il existe aussi des anticorps « low-grade » susceptibles de se combiner à l'antigène, mais incapables de donner avec lui un complexe insoluble (40, 160, 248, 162).

recherches de Anderson et Stanley qui, mettant en jeu le microscope électronique, ont pu suivre la réaction entre les virus de la mosaïque du tabac et les anticorps de l'immunsérum correspondant.

b) *Fixation du complément.* — Le complexe antigène-anticorps a la propriété de pouvoir fixer un des constituants sériques que l'on appelle le *complément* ou *alexine* (*). Le mécanisme exact de la fixation reste encore assez mal déterminé. Bordet avait déjà constaté, dès 1900, à propos de cette fixation, un phénomène identique à celui observé par Danysz à propos des antitoxines (proportions multiples). Quant à la nature de la liaison, il semble qu'il s'agisse d'un phénomène d'adsorption (Heidelberger [163]), dans lequel la taille des particules mises en jeu semble intervenir.

Beaucoup de facteurs exercent une influence, non seulement sur la quantité d'alexine que peut fixer le complexe antigène-anticorps, mais aussi sur la vitesse avec laquelle s'effectue cette fixation.

La moindre trace de « complexe » peut fixer une quantité appréciable d'alexine. Cette grande sensibilité rend délicates les applications de la réaction. Aussi, préfère-t-on l'utiliser comme méthode qualitative de diagnostic (mise en évidence d'anticorps spécifiques, tests médico-légaux).

c) *Bactériolyse. Hémolyse.* — Les premières observations de lyse spécifique furent faites avec les bactéries, mais ce phénomène apparaît surtout nettement avec les hématies, grâce à la libération de l'hémoglobine. L'alexine intervient dans le phénomène.

Notons que toutes les bactéries ne se montrent pas sensibles à cette action.

d) *Agglutination.* — Les anticorps spécifiques, après combinaison aux substances antigéniques fixées à la cellule, permettent à cette dernière de pouvoir s'accoler à d'autres cellules sensibilisées : c'est l'agglutination.

Pour Bordet [30], les agglutinines ne feraient que sensibiliser les cellules à l'agglutination par les électrolytes présents dans le milieu. L'hypothèse la plus récente suppose que l'agglutination résulte de la formation d'une sorte de « réseau » due à la multivalence des cellules-antigènes et des anticorps.

(*) On consultera avec fruit la thèse de Ranque [269] sur la contribution à l'étude de l'alexine.

Il suffit de bien peu d'anticorps spécifiques pour provoquer l'agglutination des cellules correspondantes. Si l'immunsérum est trop dilué ou trop concentré, l'agglutination ne se produit plus, car il existe une zone d'agglutination.

e) *Précipitation.* — Le plus souvent l'union des deux agents est suivie plus ou moins rapidement de la formation d'un précipité.

Cette précipitation peut se produire pour des proportions relatives variables de l'antigène et de l'anticorps, mais s'il y a un gros excès de l'un ou de l'autre, la floculation ne se produit pas. Il existe ici encore une zone d'action.

Même dans cette zone de floculation, le volume et la composition du précipité sont variables et dépendent des proportions relatives d'antigène et d'anticorps. La région où le précipité est le plus abondant est dite *zone d'équivalence* ou *zone de neutralité*. C'est aussi la zone où la floculation apparaît le plus rapidement (zone optimum) (*).

Si le précipité obtenu dans la zone d'équivalence est à peu près insoluble dans l'eau physiologique, il se redissout le plus souvent assez bien dans une solution un peu concentrée d'antigène. En réalité, il ne s'agit pas d'une simple dissolution du complexe : il paraît plus simple d'admettre que ce dernier s'est d'abord dissocié et perd ensuite une partie de l'anticorps entrant dans sa composition. L'anticorps libéré se combine à l'antigène ajouté pour donner de nouveaux complexes solubles. La réversibilité se montre d'autant plus accusée que le complexe avait mis plus de temps à se former.

Pour comprendre et expliquer le mécanisme de floculation, de nombreux chercheurs ont entrepris l'étude des facteurs qui peuvent influencer cette réaction.

L'étude des électrolytes a montré que, souvent, la précipitation n'a pas lieu en l'absence de ces ions; de plus, une concentration trop faible retarde considérablement les réactions, tandis qu'une concentration saline trop élevée l'inhibe complètement [306, 122, 193].

La précipitation ne peut avoir lieu qu'entre *p*H 4,5 et 9,5 (Schmidt [292, 293]) et, même entre ces limites, la vitesse de floculation varie.

(*) Toutes les techniques quantitatives consistent justement à rechercher ces zones d'équivalence, de neutralité, d'optimum de floculation : méthodes d'Heidelberger [157, 158, 159], de Ramon [261, 263, 266, 264], de Dean et Webb [78].

Entre 0° et 40°, la vitesse de floculation augmente avec la température; aussi s'avère-t-il important, lorsque l'on étudie la vitesse de floculation d'un système immunologique, d'opérer toujours à une température constante. L'agitation, enfin, accélère aussi la vitesse de la réaction.

Les anticorps, comme d'ailleurs la plupart des protéides du sérum, sont souillés par des satellites divers « cénapsés » avec eux (lipides, glucides, bilirubine, vitamine A, etc.). Si un satellite se trouve fixé sur l'anticorps au niveau ou au voisinage immédiat de la zone de sa surface qui porte l'empreinte spécifique, ce satellite peut gêner ou empêcher la combinaison avec l'antigène. Les études effectuées dans ce domaine ont montré entre autre que les lipides fixés aux anticorps ne jouent aucun rôle dans la réaction spécifique, mais favorisent l'insolubilisation du complexe.

Par l'action de réactifs chimiques variés sur l'anticorps, on peut apporter des modifications aux phénomènes secondaires et même quelquefois à la première phase.

Parmi les réactifs étudiés, signalons le cétène (Chow et Gœbel [69], Sandor et Goldie [286, 287], Boyd et Tamura [42]), les sels de diazonium (Breinl et Haurowitz [46], Eagle, Smith et Vickers [95]), le formol [100, 119, 9, 232, 177, 155, 258, 69] et les détergents (Holmes, Yale [167]) qui, se fixant sur certaines fonctions chimiques de l'anticorps, retardent et suppriment même parfois la floculation.

Certaines substances qui s'adsorbent à la surface des protéides, comme les sels biliaires (Tayeau, Rolland et Pautrizel [travail inédit]) et les savons (*), ne paraissent pas avoir d'influence sur la floculation. La ninhydrine, qui se fixe sur certaines fonctions chimiques des protéides (Dulière, Eggerth), possède la curieuse propriété d'accélérer considérablement la floculation du système sérum de Cheval-antisérum de Lapin (Tayeau, Pautrizel et M^lle F. Faure [travail inédit]).

Tous ces travaux mettent bien en évidence le rôle essentiel joué par les fonctions polaires des protéides dans le phénomène de la floculation spécifique.

De nombreuses hypothèses ont été émises en vue d'expliquer le mécanisme des réactions de précipitation. Mentionnons à ce sujet les noms de Ehrlich, Arrhenius [3], Bordet [30], Marrack [217], Heidelberger [154], Pauling [250], Dervichian et Grabar [85, 134, 84]. Aucune de ces hypothèses n'est

(*) Voir plus loin, p. 99.

exempte de critiques. Tout récemment, Boyd [40, 36] a proposé la théorie de l' « occlusion » qui a le défaut et en même temps le mérite de rester neutre et assez vague (Neuzil [235]).

L'auteur pense que « la floculation serait due beaucoup plus à une diminution de l'hydrophilie du complexe qu'à l'attraction mutuelle des molécules entrant dans la réaction. Cette perte d'affinité pour l'eau proviendrait de la neutralisation réciproque des groupements polaires de l'antigène et de l'anticorps, et de l'empêchement stérique concomitant des autres fonctions hydrophiles de l'anticorps, empêchement stérique dû à la proximité de la molécule antigénique. Les molécules d'anticorps, unies à la molécule d'antigène, sont étroitement rapprochées et empiètent littéralement les unes sur les autres. Plusieurs de leurs groupements polaires, bloqués par des liaisons non spécifiques, ne peuvent plus attirer les molécules du solvant aqueux. Il y aurait en somme une véritable élimination de ces groupements, une « occlusion » mécanique. Le complexe spécifique ne posséderait plus assez de fonctions polaires lyophiles pour se maintenir en solution. »

Les études comparatives de l'action de divers réactifs sur les protéides et sur le phénomène de floculation laissent espérer que l'on arrivera plus tard à pénétrer le mécanisme de la réaction antigène-anticorps.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

CHAPITRE PREMIER

ESSAIS PRÉLIMINAIRES. A LA RECHERCHE DE TECHNIQUES APPROPRIÉES A NOS EXPÉRIENCES

Dans la première partie de nos recherches, nous avons porté notre attention sur le rôle joué par les anémies globulaire et plasmatique dans le genèse des anticorps.

Cette étude nous a amené, tout d'abord, à choisir un animal pour nos recherches. Après quelques essais sur le Cobaye et le Rat, nous nous sommes arrêté au Lapin qui, on le sait, constitue un animal de choix pour la production des anticorps. De plus, cet animal se prête particulièrement bien à l'étude de l'anémie, comme nous aurons d'ailleurs l'occasion de le signaler plus loin. A un double titre par conséquent, il présentait un intérêt pour nous.

Quel était le système antigène-anticorps sur lequel nous allions opérer ?

Au début de nos essais, nous avions choisi le système anatoxine diphtérique-antitoxine diphtérique, mais tout de suite nous nous sommes heurté à de nombreuses difficultés tant techniques que matérielles : l'antitoxine diphtérique, chez le Lapin, ne peut être dosée que par la méthode d'Ehrlich [30] nécessitant un nombre de Cobayes fort important, ou bien encore par la méthode de Schmidt et Jensen [294] mettant en jeu un grand nombre de Lapins, hors de proportion avec les ressources dont nous disposions. Nous avons dû abandonner ce système immunologique et, finalement, nous avons choisi comme antigène le sérum de Cheval. Vis-à-vis de cet antigène, le Lapin réagit fort bien en produisant des anticorps abon-

dants; de plus, ces derniers peuvent être mis aisément en évidence, grâce à la méthode de précipitation spécifique.

I. — MODALITÉS DE PRODUCTION D'ANTICORPS CHEZ LE LAPIN

On sait depuis longtemps que l'apparition des anticorps dans les humeurs constitue un phénomène progressif [279, 284], et cela quelle que soit la nature de l'antigène utilisé et son mode d'introduction (voies sous-cutanée, intrapéritonéale, intraveineuse). Par des procédés variés (agglutination, hémolyse, floculation, viscosité, indice réfractométrique...), on peut suivre la production des anticorps. L'abondance des anticorps dans le sérum se trouve liée à la violence de la sollicitation réalisée chez l'animal par les injections d'antigène pendant la période pré-allergique. Or, cette période pré-allergique se montre très courte (quatorze à dix-huit jours) ; après ce délai, le moindre apport d'antigène risque de déclencher un choc anaphylactique avec algidité, hypotension, diarrhée et souvent mort de l'animal. Si, après des injections répétées au cours de la période pré-allergique, on laisse l'animal au repos au moins trois semaines, et si l'on effectue ensuite une nouvelle injection d'antigène (injection de rappel), on observe d'abord un fléchissement du taux des anticorps pendant quelques jours, c'est la *période négative* des immunologistes, puis la teneur en anticorps augmente et dépasse la valeur initiale. Pour expliquer ce phénomène, on peut admettre [202] que l'antigène s'est fixé tout d'abord sur l'anticorps : Leya [202] a pu constater que l'injection de rappel provoque une chute du titre en anticorps proportionnelle à la violence de la réaction. Si la quantité d'antigène injectée s'avère très faible et si elle est administrée par « voie peu sensible », comme la voie sous-cutanée, le titre en anticorps subit fort peu de modifications. Si, au contraire, le choc déclenché se montre très sévère, le titre diminue brusquement et devient même nul en cas de choc mortel.

En utilisant une substance antigénique ne provoquant pas de choc anaphylactique mortel, comme l'anatoxine diphtérique par exemple, Sédallian et ses collaborateurs [297, 298, 299] ont étudié les variations du taux en anticorps (antitoxine diphtérique) chez le Lapin en fonction du temps. Ils notent que si, après vingt jours de repos, on pratique chez un animal

immunisé une injection de rappel, on observe, après un délai de quatre ou cinq jours, une montée du taux des antitoxines; ce taux continue de croître pendant un certain temps puis atteint un maximum; il diminue ensuite avant de se stabiliser.

La courbe ci-après, représentative des variations du taux en anticorps en fonction du temps écoulé après l'injection de rappel, schématise ces résultats et montre que l'on peut distinguer trois périodes :

Une période d'augment (A B);
Une période de décrément (B C);
Une période de stabilisation (C D).

La période d'augment (A B) et la période de décrément (B C) sont aussi courtes l'une que l'autre de sorte que si à la base du clocher on trace une ligne horizontale, on obtient un triangle isocèle A B C (Sédallian [299]).

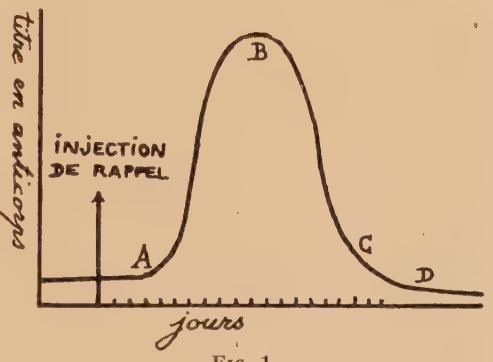

Fig. 1.

Après une injection de rappel, le phénomène présente toujours le même aspect. Cependant, la durée des trois périodes et la hauteur du maximum atteint varient non seulement d'un sujet à l'autre, mais aussi suivant l'antigène employé.

Ramon et Richou [267], en immunisant en même temps un animal avec des anatoxines différentes (anatoxines diphtérique, tétanique et staphylococcique), ont d'ailleurs montré que la teneur et l'augmentation du titre en antitoxines varie avec l'antigène employé.

On aurait pu penser qu'en pratiquant continuellement des injections de rappel, tous les cinq jours par exemple, on allait maintenir constant le taux en anticorps; il n'en est rien, ainsi que l'ont montré Sédallian et Clavel [296] : l'animal continuellement immunisé passe par des phases successives d'aptitudes de *réactivité* et de *non réactivité*. La courbe se présente sous la forme d'une série d'ondulations. Lorsqu'une injection nouvelle est pratiquée au cours d'une période de décrément, elle se montre inefficace; elle ne peut provoquer l'augmentation

du titre en anticorps que si elle est effectuée en période d'ascension ou en période de stabilisation.

Par la méthode d'immunisation continue, il serait très difficile de pouvoir suivre l'influence d'un facteur sur la production des anticorps, mieux vaut s'adresser à une immunisation discontinue par le procédé des injections de rappel. C'est à cette dernière méthode que nous nous sommes arrêté en mettant en jeu le mode opératoire ci-dessous.

II. — IMMUNISATION DE LAPINS AVEC DU SÉRUM DE CHEVAL

Pendant une quinzaine de jours, les Lapins reçoivent par voie intraveineuse six injections de doses croissantes de sérum de Cheval, recueilli aseptiquement. Lors des deux premières injections, les animaux ont reçu 0,5 cm^3 de sérum de Cheval; au cours des deux suivantes, ils ont reçu 1 cm^3; enfin, les deux dernières étaient de 2 cm^3. Les injections ont été effectuées tous les deux ou trois jours. Nous avons choisi la voie intraveineuse, car c'est elle qui semble donner naissance au taux d'anticorps le plus élevé.

Après cette série d'injections, les animaux sont laissés au repos pendant plus d'un mois. Puis on pratique des injections de rappel. Pour éviter la production du choc anaphylactique au cours des injections de rappel, les animaux étaient préalablement désensibilisés par le procédé de Besredka consistant à leur injecter sous la peau, une demi-heure avant, une infradose de sérum de Cheval.

L'injection de rappel que nous avons effectuée consiste à administrer deux fois, par voie intraveineuse et à quarante-huit heures d'intervalle, 5 cm^3 de sérum de Cheval. A partir de ce moment, nous avons suivi le taux des précipitines contenues dans le sérum de Lapin et nous avons ainsi établi des courbes d'immunisation; celles-ci présentent les mêmes caractéristiques que celles obtenues par Sédallian et ses collaborateurs à partir de l'anatoxine diphtérique.

Cette courte observation montre que le phénomène décrit par Sédallian et ses collaborateurs, à propos du système anatoxine diphtérique-antitoxine de Lapin, peut être étendu au système précipitant que nous avons étudié : sérum de Cheval-antisérum de Lapin.

III. — SUR LA PRODUCTION D'ANÉMIE CHEZ LE LAPIN

Le Lapin a été bien souvent employé pour l'étude expérimentale de l'anémie et de la régénération sanguine [322, 71, 4, 79, 106, 87, 7, 109, 212, 221]. Deux grands groupes de techniques s'offrent à nous pour l'étude des anémies expérimentales : celles mettant en jeu l'utilisation de substances toxiques (anémie par destruction) et celles utilisant la soustraction sanguine (anémie par saignée).

a) *Anémie par destruction*

Si cette technique ne se montre pas exempte de critiques, elle présente tout au moins l'avantage de ne pas modifier le volume sanguin de l'animal en expérience. Les poisons agissent soit sur les organes hématopoïétiques, soit sur les éléments figurés, et en particulier sur les hématies qui sont altérées puis détruites *in situ*.

Parmi les substances toxiques mises en jeu, il faut citer le thorium et le mésothorium (Lambin et Cornil [191], Artus, Loureau et Sylvestre de Sacy [4]), qui présentent l'inconvénient de léser considérablement l'état général de l'animal qui évolue rapidement vers la cachexie.

Les saponosides ont été utilisés également dans la production des anémies expérimentales, mais les résultats obtenus avec cette substance se sont montrés fort irréguliers.

L'anémie due à l'intoxication chronique aux sels de plomb [282, 290, 4] affecte une certaine stabilité; on ne note pas ici d'accidents comme avec le thorium et le mésothorium.

On peut se demander si l'anémie produite sous l'influence de ces divers toxiques n'est pas seulement apparente : les globules altérés se trouvent, certes, momentanément perdus pour la fonction respiratoire, mais leurs produits de destruction risquent d'être utilisés non seulement pour l'élaboration de nouveaux globules, mais encore comme substances excitatrices de l'hématopoïèse. On explique ainsi la rapidité avec laquelle l'animal régénère ses hématies après les anémies provoquées par des substances toxiques. D'autre part, certaines, parmi les substances toxiques employées, peuvent encore présenter des interférences physiologiques en inhibant la fonction hématopoïétique ou bien en agissant sur divers organes (foie, reins) ayant une répercussion plus ou moins lointaine sur l'état général de l'animal.

En raison de ces inconvénients, certains auteurs préfèrent utiliser l'anémie par saignée.

b) *Anémie par soustraction (anémie par saignée)*

Lorsque l'on pratique une saignée chez le Lapin, il apparaît une modification de la composition du sang, consécutive à un appel du liquide interstitiel; mais rapidement les organes hématopoïétiques réparent la perte en globules rouges due à la saignée. Après quarante-huit heures, l'ascension du taux des hématies apparaît nettement. Cependant, le taux de l'hémoglobine ne reprend pas aussi rapidement que celui des hématies sa valeur normale.

Une seule saignée, même abondante, n'arrive pas à produire pendant un temps appréciable une anémie importante. Si l'on veut obtenir chez le Lapin un état d'anémie persistant, il s'avère nécessaire d'avoir recours à des saignées répétées que le Lapin supporte d'ailleurs très bien (Dejust et Vaurs [79]). Il est même indispensable, si l'on veut qu'une certaine anémie reste stable, d'effectuer des prélèvements assez copieux (25 à 40 cm^3) et assez rapprochés (trois fois par semaine environ).

Artus et ses collaborateurs [4], en enlevant à des Lapins 20 cm^3 de sang environ tous les cinq jours, n'obtiennent, après quatre ou cinq prélèvements, qu'une diminution de 800.000 hématies par mm^3. Si les prélèvements sont rapprochés et abondants, des désordres graves et des modifications très notables, non seulement dans le taux des éléments figurés du sang, mais encore dans la constitution chimique du plasma, apparaissent. Lorsque les prélèvements sont judicieusement effectués, il semble que les organes hématopoïétiques s'adaptent très bien à ce nouvel état; d'ailleurs, lorsque l'animal reste au repos, il régénère ses globules rouges aussi rapidement qu'après une saignée unique.

Nous conclurons cette discussion en disant, avec Aubertin [7], « qu'au point de vue du mécanisme de la régénération sanguine, seules les anémies par soustraction peuvent nous renseigner exactement, car le processus réparateur y est absolument pur, bien qu'à vrai dire il y ait peut-être une très légère exagération des fonctions hémolytiques de la rate vis-à-vis des hématies imparfaites mises en circulation : néanmoins, on peut admettre que la suractivité fonctionnelle des organes hématopoïétiques est exclusivement formatrice. Pour les anémies par destruction, au contraire, les signes hématologiques et anato-

miques de suractivité hématopoïétique existent encore, mais ils sont associés à des signes de suractivité destructrice, et parfois même les résultats peuvent être faussés par l'action directe que peuvent avoir ces produits sur la moelle ».

La réparation sanguine après la saignée ressemble au mécanisme physiologique de l'hématopoïèse. C'est pour cette raison que nous avons choisi ce procédé.

c) *Prélèvement de sang*

La saignée peut être effectuée différemment : on utilise généralement la ponction veineuse ou bien la ponction intracardiaque.

Le prélèvement dans la veine saphène ou dans les jugulaires externes ne saurait être utilisé dans nos expériences, car il est nécessaire dans ce mode de prélèvement de découvrir chaque fois les veines, ce qui ne pourrait être pratiqué lorsque des saignées répétées s'avèrent nécessaires. Nous avons, au début de nos expériences préliminaires, utilisé néanmoins la ponction des jugulaires; cependant, la lésion laissée par la petite intervention empêche les animaux de se nourrir normalement et cela amène des perturbations dans leur état général.

La prise de sang par ponction des vaisseaux auriculaires ne présente pas ces inconvénients, mais le temps nécessaire pour effectuer une saignée abondante peut être long et provoquer des coagulations ne permettant plus l'utilisation du sang prélevé. De plus, les veines sont rapidement lésées et se prêtent fort peu à des prélèvements ou injections ultérieurs. Certains auteurs ont néanmoins obtenu des saignées abondantes à partir des vaisseaux de l'oreille, c'est ainsi que Skornjakoff retire en une à une minute et demie 60 cm^3 de sang environ; mais, dans ces conditions, il est nécessaire d'inciser la veine en longueur par un coup de ciseaux après y avoir introduit une des branches. Dans ce cas, les vaisseaux sont rapidement inutilisables. Certains, parmi nos animaux, devaient recevoir au cours de nos essais plus de trente-quatre injections par les veines auriculaires. Nous devions donc économiser ces dernières et surtout ne pas les soumettre à des incisions en vue de prélèvements sanguins.

C'est donc à la ponction cardiaque que nous avons eu recours : par cette voie, nous pouvions enlever rapidement le volume de sang nécessaire, y adjoindre tout de suite l'anticoagulant et éviter ainsi la coagulation qui normalement se

produit très rapidement chez le Lapin. Pagniez [247] semble avoir été le premier à utiliser cette voie, mais dans son travail original il ne dit pas la technique utilisée. Pour notre part, nous nous sommes adressé à celle de Nicolle et Ducloux [238, 239].

Technique de Nicolle et Ducloux

On attache tout d'abord l'animal sur le dos; on rase ensuite les poils du thorax gauche, puis on désinfecte; avec une aiguille à biseau court longue de 2 cm. et de calibre un peu supérieur à celui d'une aiguille ordinaire, on ponctionne le ventricule droit de la façon suivante : on pénètre brusquement au troisième espace intercostal, à 3 mm. du bord sternal en dirigeant l'aiguille de bas en haut et d'avant en arrière, en inclinant légèrement à droite. Il faut parfois retirer légèrement l'aiguille de 2 ou 3 mm. pour être dans le ventricule droit. Si l'on n'incline pas assez vers la droite, on pique le ventricule gauche; si l'on incline trop, on longe le bord droit du cœur et l'on fait une ponction blanche. Il faut alors retirer un peu l'aiguille, de manière à ce que la pointe seule se trouve dans la paroi; on rectifie la position et l'on pique de nouveau. Pratiquée ainsi, la ponction du cœur présente le maximum de garantie; il est nécessaire que la pointe de l'aiguille soit parfaitement intacte afin de ne pas blesser le myocarde.

Nous avons pu prélever jusqu'à 750 cm^3 de sang à un même Lapin en vingt ponctions pendant une période de quatre-vingt-quatre jours (*).

Dans nos expériences, nous avons eu souvent besoin de récupérer les hématies prélevées au cours de nos ponctions. Or, le sang de Lapin, très riche en prothrombine, se coagule très rapidement. Il fallait donc envisager un moyen d'empêcher cette coagulation. Pour cela, divers procédés s'offraient à nous : certains auteurs ont proposé d'inoculer préalablement à l'animal certaines substances qui, par une action plus ou moins bien définie sur certains facteurs de la coagulation, en troublent le mécanisme. L'emploi du citrate de sodium est à rejeter, car depuis les travaux de Bordet, Gay et Gengou [31] et de Grimbert, Mutermilch et Agasse-Lafont [139], on connaît l'action inhibitrice de ce sel sur l'alexine : on pourrait donc supposer que cette substance agit aussi sur les anticorps. Le liquoïde présente une certaine toxicité et provoque entre autres phénomènes des hémorragies dues à des modifications de la

(*) La méthode indiquée par Theodorides [322], dans laquelle le cœur est atteint par voie latérale, nous a paru moins commode, et c'est pour cela que nous l'avons délaissée.

perméabilité vasculaire [345]. L'héparine [138, 41, 320, 153, 288, 272, 137] semble présenter l'anticoagulant idéal, mais, au moment où nous avions effectué nos premières recherches, nous n'en disposions que de très petites quantités. C'est la raison pour laquelle nous avions dû associer l'héparine à un dérivé de la dicoumarine dont on a depuis peu découvert et étudié l'action comme antagoniste de la prothrombine [19, 181, 198, 184, 33]. Nous avions alors mis en œuvre le mode opératoire suivant : nous faisions ingérer à nos animaux, la veille et l'avant-veille, une certaine dose du sel de lithium de la 3-3' méthylène bis 4-4' hydroxycoumarine (*), de façon à abaisser la teneur en prothrombine; puis, une à deux heures avant le prélèvement par ponction cardiaque, nous injections un certain volume d'une solution d'héparine. Par ponction, nous pouvions ainsi retirer du sang qui ne coagulait pas et sur lequel il nous était commode de pratiquer les différentes recherches que nous nous étions proposé de faire. Malheureusement, l'emploi successif de la 3-3' méthylène bis 4-4' hydroxycoumarine et l'héparine amenèrent une fragilité des parois vasculaires, et la moindre réinjection intraveineuse provoquait d'énormes hématomes, si bien que nous avons dû abandonner cette technique.

Par la suite, heureusement, nous avons pu nous procurer de l'héparine en plus grande quantité, ce qui nous a permis d'envisager une technique plus pratique.

Technique définitivement adoptée. — Pour obtenir du sang incoagulable, il faut le recueillir dans des tubes stériles contenant une certaine quantité d'héparine et prendre soin d'introduire préalablement dans la seringue quelques gouttes d'une solution de 1 p. 100 de cet anticoagulant, car le sang risquerait de se coaguler dans l'aiguille. Nous avons toujours employé une même quantité d'héparine (1 mg. pour 10 cm^3 de sang).

Dans un grand nombre de nos expériences, nous avons réinjecté à nos animaux les hématies contenues dans le sang prélevé. Il fallait donc pouvoir les extraire de ce dernier, puis éliminer, au cours de cette opération, les leucocytes, dont certains, on le sait [96, 337], jouent un rôle essentiel dans la genèse des anticorps.

Séparation du plasma et des hématies. — Dès son prélè-

(*) Nous remercions les Laboratoires du Docteur Auclair d'avoir bien voulu mettre à notre disposition des dragées d'Anathrombase, sel de lithium de la 3-3' méthylène bis 4-4' hydroxycoumarine,

vement, le sang est centrifugé (6.000 tours minute pendant cinq minutes). On obtient ainsi trois couches :

1° Une couche inférieure rouge constituée par les hématies;

2° Une couche moyenne blanc jaunâtre représentant les leucocytes et les thrombocytes;

3° Une couche supérieure liquide correspondant au plasma.

La couche moyenne, dans les conditions expérimentales que nous avons décrites, forme des agglomérats dont nous nous sommes facilement débarrassé. Après avoir mis de côté le plasma utilisé pour certaines analyses, nous lavons à plusieurs reprises le culot globulaire à l'aide d'eau physiologique. Nous faisons passer ensuite la suspension à travers une gaze stérile qui retient les agglomérats correspondant à la couche moyenne (leucocytes et thrombocytes). Cette suspension, dans certains de nos essais, est réinjectée à l'animal dans la veine marginale de l'oreille. Nous provoquons ainsi une anémie seulement plasmatique (plasmaphérèse).

Toutes les techniques auxquelles nous venons de faire allusion nous ont permis de préparer nos animaux en vue des essais ultérieurs comportant la détermination du titre en anticorps de leur sang et l'analyse de ce dernier (numération globulaire, dosages divers dans le plasma).

IV. — TITRATION DES ANTICORPS

Aussitôt recueilli, nous plaçons le plasma dans l'armoire frigorifique (4°) sans addition d'aucune substance antiseptique du type de celles mises en jeu dans les instituts de sérothérapie pour la conservation des sérums (*).

En général, nous avons préféré titrer nos plasmas le plus tôt possible (vingt-quatre heures) après le prélèvement afin qu'en cas de souillure accidentelle, les germes n'aient pas le temps de se développer. Pour cette titration, nous nous sommes inspiré de la méthode de Dean et Webb [78] :

« A des quantités constantes d'immunsérum, on ajoute des quantités variables d'antigène et on note l'apparition de floculats en fonction du temps. La floculation ne se produit pas d'une façon simultanée dans tous les mélanges : elle apparaît plus ou moins vite suivant le rapport des concentrations entre l'antigène et l'anti-

(*) Pressman et Grossberg [260] ont, en effet, montré que l'addition à des sérums d'antiseptiques comme le merthiolate (éthylmercurithiosalicylate de sodium) peut fausser certaines réactions de précipitation,

corps. Dans le mélange où la floculation est la plus précoce, le rapport de la dilution de l'antigène à celle de l'immunsérum est constant pour un système donné. Dean et Webb appellent ce rapport le *point de proportions optima*. A ce point, la plus grande partie, et souvent même la totalité, de l'antigène est précipitée. Si donc on connaît la quantité d'antigène de ce mélange et le rapport de l'antigène à l'immusérum au point de porportions optima, on peut calculer la quantité d'anticorps dans un volume donné d'immunsérum [207]. »

C'est en somme une technique inverse de celle utilisée par Ramon pour le dosage de l'antitoxine diphtérique.

Tenant compte des remarques judicieuses de Boyd [34, 40], nous avons toujours effectué nos titrations sur les sérums anticorps à la même dilution. Nos essais préliminaires ont montré que la dilution du sérum anticorps au 1/8e permettait toujours l'obtention d'une zone suffisante de floculation; à cette dilution, le temps d'apparition du floculat, « au point des proportions optima », paraissait toujours aisément accessible à la mesure. Nous diminuions ainsi les causes d'erreurs provenant du taux de dilution de l'anticorps.

Technique :

Dans douze tubes à hémolyse, on place :

Tube n° 1 : 1 cm³ de sérum de Cheval pur;

Tube n° 2 : 1 cm³ de sérum de Cheval au 1/2;

Tube n° 3 : 1 cm³ de sérum de Cheval au 1/4;

Tube n° 4 : 1 cm³ de sérum de Cheval au 1/8e... et ainsi de suite; on ajoute ensuite 1 cm³ de sérum de Lapin au 1/8e (*). On mélange immédiatement, puis on immerge les tubes jusqu'à mi-hauteur dans un bain-marie à 37° [40]. Le tube où la floculation apparaît la première correspond à celui des *proportions optima*. Mais cette première mesure n'indique qu'approximativement la zone des *proportions optima*. Si l'on veut obtenir un résultat plus exact, il faut faire une titration plus précise des anticorps et recommencer une nouvelle expérience dans la zone plus élargie voisine de la zone des *proportions optima*.

Un exemple choisi parmi nos expériences illustre cette technique. Dans le tableau I, nous avons indiqué la composition et le titre en anticorps (**) de nos divers mélanges.

(*) Les dilutions des sérums antigènes et sérums anticorps ont été effectuées avec de l'eau physiologique à 9 p. 1.000 en ClNa.

(**) Nous choisissons arbitrairement le titre 1 en anticorps pour le tube XII. Dans notre travail, nous conserverons toujours ce système d'unité qui s'avère pratique pour nos dosages,

TABLEAU I

TUBES	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Dans chaque tube : 1 cm³ d'une dilution d'antigène au titre.	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
Dans chaque tube : 1 cm³ d'une dilution d'anticorps au titre.	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8
Titre en anticorps	2.048	1.024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1

Après séjour au bain-marie à 37°, nous constatons par exemple que c'est le tube VI qui flocule le premier. Nous en concluons que le titre du sérum de Lapin étudié est voisin de 64. Une nouvelle titration effectuée dans une zone plus réduite va préciser notre premier résultat. Nous effectuons donc une nouvelle série de mélanges correspondant au tableau II.

TABLEAU II

TUBES	V	»	»	»	VI	»	»	»	VII
Tubes N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dans chaque tube : 1 cm³ d'une dilution d'antigène au titre.	1/16	1/20	1/24	1/28	1/32	1/40	1/48	1/56	1/64
Dans chaque tube : 1 cm³ d'une dilution d'anticorps au titre.	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8
Titre en anticorps	128	112	96	80	64	56	48	40	32

Après séjour au bain-marie à 37°, nous nous apercevons que c'est le tube 4 qui flocule le premier. Nous en concluons que le titre en anticorps est de 80 unités. Quand deux tubes floculent en même temps, ce qui se produit quelquefois, nous prenons la moyenne entre les deux chiffres,

V. — ANALYSES EFFECTUÉES SUR LE SANG DE LAPIN

Au cours de nos expériences, nous avons suivi continuellement la régénération des hématies et de quelques constituants plasmatiques (protéines, lipides, cholestérol), afin d'étudier les relations entre la production des anticorps et la régénération d'un ou de plusieurs de ces constituants.

A. — Numération des hématies

Pour suivre l'état anémique de nos Lapins et le pouvoir régénérateur de leurs organes hématopoïétiques, nous avons, lors de chaque prélèvement sanguin, déterminé la teneur en hématies du sang. Nous n'avons pas utilisé le prélèvement en provoquant la piqûre d'un petit vaisseau (à l'oreille par exemple), car on sait combien le Lapin est un animal « émotif ». Les phénomènes de vasoconstriction et de vasodilatation qui en résulteraient modifieraient, en effet, à chaque instant la teneur en hématies du sang périphérique [18]. Nous n'avons pas voulu non plus utiliser pour les numérations globulaires le sang recueilli sur héparine au cours de nos ponctions, car cet anticoagulant risque de provoquer dans certains cas la formation de petits amas globulaires qui rendraient la mesure inexacte [21, 336]. Pour nous mettre à l'abri de toutes ces critiques, nous avons prélevé directement du cœur, après la ponction, quelques gouttes de sang que nous avons aussitôt dilué avec du liquide de Marcano à l'aide de la pipette-mélangeur Potain.

Toutes les numérations ont été effectuées en double à l'hématimètre de Malassez.

B. — Dosages des protéides, des lipides et du cholestérol

Le dosage des protéides et des lipides plasmatiques (*) a été effectué à l'aide de la technique de Kumagawa et Suto (voir détail dans 312), celui du cholestérol pratiqué sur l'extrait lipidique grâce à la réaction de Liebermann-Burchard [203, 52] avec lecture à l'électrophotomètre de Meunier.

Nos essais préliminaires, dont nous n'avons rapporté que l'essentiel, nous permettent à présent d'aborder la première partie du problème auquel nous nous sommes attaché : le rôle de l'anémie dans la genèse des anticorps.

(*) Les anticoagulants comme les citrates, les oxalates, des substances antiseptiques comme le cyanure de potassium et le fluorure de sodium provoquent, au moment de leur addition au sang, une diminution du taux en lipides du plasma. L'héparine, au contraire, ne provoque aucune modification de ce genre [41].

CHAPITRE II

SUR LE ROLE DE L'ANÉMIE DANS LA PRODUCTION DES ANTICORPS

Dans la première partie de notre travail, nous avons exposé les principales recherches sur le lieu de formation des anticorps et sur le mécanisme de leur genèse.

De cette étude, il ressort un fait établi : chez un animal, les anticorps possèdent la même composition que les globulines normales; seule, la structure moléculaire les différencie. Les anticorps ont donc comme origine les aminoacides. Or, certains éléments figurés et divers constituants sanguins (hématies, leucocytes, protéides plasmatiques) ont également pour origine les aminoacides. Il paraissait donc plausible d'admettre que la genèse des anticorps et la régénération sanguine après l'anémie constituaient deux problèmes liés l'un à l'autre. C'est cette conception qui nous a suggéré d'étudier la genèse des anticorps au cours de l'anémie.

Nous avons voulu tout d'abord étudier les fluctuations du taux des anticorps au cours de l'anémie; cela a nécessité la mise en jeu d'un nombre élevé d'animaux, afin de pouvoir établir une moyenne. Nous avons cherché, en outre, à pénétrer le mécanisme de la formation des anticorps, et nous avons voulu savoir, en particulier, si les mêmes réserves pouvaient être utilisées pour l'élaboration des anticorps et pour la régénération sanguine; cela nous a conduit à étudier par la suite les modifications immunitaires et humorales chez l'animal subissant une anémie totale en comparaison avec l'animal chez lequel une anémie seulement plasmatique était provoquée (plasmaphérèse).

Nous avons utilisé, dans les divers essais que nous avons effectués, trente-six Lapins. Quelques-uns, parmi eux, sont morts en cours de traitement, mais la plupart ont cependant survécu; ainsi, il nous a été possible d'émettre des conclusions sur les résultats de nos expériences.

Après avoir exposé le protocole de nos essais, nous indiquerons les résultats que nous avons obtenus au cours de nos recherches sur les anticorps et sur les constituants sanguins. Nous profiterons de cette occasion pour discuter les travaux effectués sur la régénération globulaire et plasmatique. Nous essayerons enfin d'interpréter les phénomènes que nous avons observés.

I. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Nous avons tout d'abord cherché à utiliser des animaux de même âge et de poids sensiblement égaux, puis nous les avons soumis à une nourriture identique pendant un certain temps, car on sait que la nourriture peut se montrer susceptible d'avoir une influence sur la production des anticorps [54] (*). Nous avons ensuite immunisé nos animaux suivant le mode opératoire précédemment décrit (six injections de sérum de Cheval en quinze jours), puis nous les avons laissés au repos pendant un mois. Après ce laps de temps, nous avons pratiqué des injections de rappel. Cinq jours après la dernière injection, alors que le taux des anticorps se trouve sur le point d'atteindre son maximum, nous répartissons nos animaux en deux lots : A et B.

Les Lapins du premier lot (A) subissent, à partir de ce moment, une série de six prélèvements de sang par voie intracardiaque, de l'ordre de 25 à 40 cm^3 par ponction.

Les prélèvements sont effectués :

le premier, cinq jours après la dernière injection de rappel,
le second, huit jours après la dernière injection de rappel,
le troisième, onze jours après la dernière injection de rappel,
le quatrième, quinze jours après la dernière injection de rappel,
le cinquième, dix-huit jours après la dernière injection de rappel,
le sixième, vingt-trois jours après la dernière injection de rappel.

(*) Une alimentation riche en lipides modifie le taux du sérum en phospholipides [23] qui jouent, comme nous le verrons plus loin, un certain rôle dans la réaction antigène-anticorps.

Les animaux du second lot (B) se trouvent soumis à un traitement identique, mais, après chaque ponction, on prend soin de leur réinjecter, dans la veine marginale de l'oreille, leurs hématies lavées et remises en suspension dans un volume de liquide de LOCKE-RINGER (*) égal au volume de sang prélevé *(plasmaphérèse* [186] ou *plasmadéplétion)*. Les animaux du second lot subissent donc une anémie seulement plasmatique.

Afin de pouvoir établir la comparaison entre ces deux lots de Lapins, nous n'avons jamais manqué, après chaque ponction effectuée chez les animaux du premier lot, de leur injecter dans la veine marginale de l'oreille un volume de liquide de LOCKE-RINGER identique au volume de sang prélevé (**).

Cette série de prélèvements une fois terminée, les animaux voient leur titre en anticorps très notablement diminuer, comme cela se produit d'ailleurs à l'état normal (voir chapitre I). A ce moment, nous provoquions, chez tous les Lapins, une nouvelle série d'injections de rappel : les animaux vont donc devoir non seulement élaborer des anticorps, mais encore régénérer les constituants sanguins qui leur ont été soustraits. Les animaux du premier lot devront réaliser au cours de cette période un « effort régénératif » beaucoup plus considérable que ceux du second lot, car il leur faudra reconstituer non seulement leur plasma, mais encore leurs éléments figurés; les animaux du second lot n'auront à réparer que leur plasma.

Nous allons pouvoir ainsi nous rendre compte si l'effort plus grand réalisé par les animaux du premier lot va se refléter sur l'élaboration de leurs anticorps.

Cette période terminée, les animaux sont soumis à une deuxième série de prélèvements et de réinjections suivant le mode opératoire décrit pour la première série (***).

(*) Solution de LOCKE-RINGER pour Lapin :

Chlorure de sodium	9 g.
Chlorure de potassium	0,42 g.
Chlorure de calcium cristallisé	0,24 g.
Bicarbonate de sodium	0,15 g.
Glucose	1 g.
Eau distillée, Q. S. ad.	1.000 cm³

(**) Si nous n'avions pas effectué cette injection de solution de LOCKE-RINGER, les animaux du premier lot seulement auraient été soumis à une grande variation du volume sanguin dont on sait l'importance sur la production des anticorps (voir à ce sujet les recherches de SELYE [301]).

(***) Certains parmi nos animaux ont fort bien résisté à ce traitement. Nous en avons profité pour effectuer chez eux une troisième série de prélèvements. Parfois même, nous avons pu réaliser une quatrième série; nous en avons profité pour inverser les traitements (voir plus loin, p. 61).

Au cours de chacun de nos prélèvements, nous avons déterminé le titre en anticorps, le taux des hématies et la composition du plasma (protidémie, lipémie, cholestérolémie).

Nous exposerons successivement les résultats obtenus.

II. — LES ANTICORPS CHEZ LE LAPIN EN COURS D'ANÉMIE

Etant donné le nombre de déterminations diverses que nous avons désiré effectuer, il ne nous a pas été possible de porter notre attention sur plus de douze animaux à la fois. Aussi, avons-nous réalisé nos expériences en trois fois.

Il ne nous est pas possible de décrire ici toutes nos expériences; nous nous contenterons donc de rapporter les résultats que nous avons obtenus pour le premier Lapin de chacun de nos trois groupes d'essais.

Lot A (anémie globulaire et plasmatique)

TABLEAU III

1er groupe. — Lapin 71 : poids, 2,300 kg.; ♀

Jours	Injection de rappel	Volume de sang prélevé	Titre en anticorps	Temps de floculation dans la zone d'équivalence (*)
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	30 cm³	24	2 minutes
10	»	30 —	24	2 —
13	»	35 —	20	3 —
17	»	24 —	14	3 —
20	»	36 —	8	4 —
25	5 cm³	32 —	7	4 —
27	5 cm³	»	»	»
32	»	37 cm³	22	1 minute
35	»	37 —	20	1 —
38	»	31 —	18	2 minutes
42	»	32 —	10	2 —
45	»	22 —	5	2 —
50	»	37 —	4	5 —

(*) Nous mentionnons dans nos divers tableaux les temps de floculation sur lesquels nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 2 :

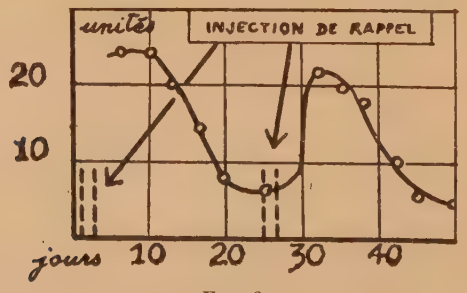

Fig. 2.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

TABLEAU IV

2e groupe. — Lapin 26 : poids, 2,100 kg.; ♀

Jours	Injection de rappel	Volume de sang prélevé	Titre en anticorps	Temps de floculation dans la zone d'équivalence
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	10 cm³	56	22 minutes
10	»	26 —	80	17 —
13	»	29 —	80	16 —
17	»	30 —	40	17 —
20	»	38 —	32	30 —
25	5 cm³	32 —	12	50 —
27	5 cm³	»	»	»
32	»	35 —	40	6 —
35	»	36 —	40	6 —
38	»	35 —	32	5 —
42	»	31 —	14	7 —
45	»	30 —	10	9 —
50	»	37 —	7	»

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 3 :

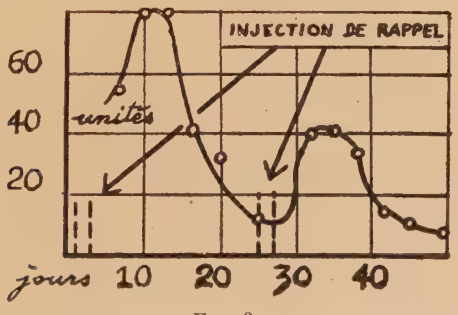

Fig. 3.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

TABLEAU V

3e groupe. — Lapin 25 : poids, 2,200 kg.; ♀

JOURS	INJECTION DE RAPPEL	VOLUME DE SANG PRÉLEVÉ	TITRE EN ANTICORPS	TEMPS DE FLOCULATION DANS LA ZONE D'ÉQUIVALENCE
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	35 cm³	80	13 minutes
10	»	30 —	80	12 —
13	»	28 —	64	12 —
17	»	30 —	32	25 —
20	»	34 —	28	75 —
25	5 cm³	32 —	24	100 —
27	5 cm³	»	»	»
32	»	35 —	64	4 —
35	»	35 —	80	5 —
38	»	35 —	80	5 —
42	»	31 —	40	7 —
45	»	35 —	20	14 —
50	5 cm³	35 —	14	15 —
52	5 cm³	»	»	»
57	»	45 —	14	6 —
60	»	42 —	20	13 —
63	»	40 —	14	18 —
67	»	46 —	10	20 —
70	»	48 —	»	»
75	»	50 —	»	»

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 4 :

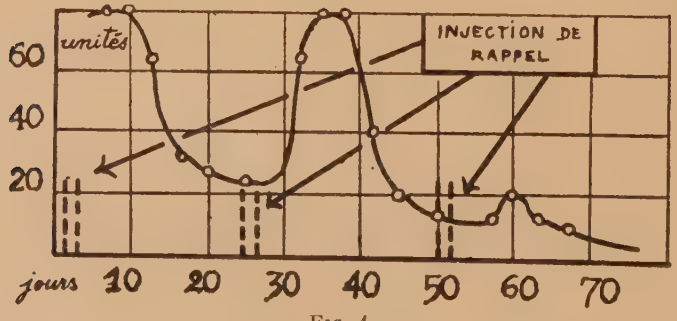

FIG. 4.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

Lot B (Plasmaphérèse)

TABLEAU VI

1er groupe. — Lapin 17 : poids, 2 kg.; ♀

JOURS	INJECTION DE RAPPEL	VOLUME DE SANG PRÉLEVÉ	TITRE EN ANTICORPS	TEMPS DE FLOCULATION DANS LA ZONE D'ÉQUIVALENCE
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	27 cm³		»
10	»	30 —		»
13	»	28 —	Inférieur	»
17	»	25 —	à l'unité	»
20	»	25 —		»
25	5 cm³	24 —		»
27	5 cm³	»	»	»
32	»	34 —	16	40 minutes
35	»	31 —	16	40 —
38	»	35 —	14	70 —
42	»	32 —	10	65 —
45	»	31 —	8	90 —
50	»	32 —	7	120 —
52	5 cm³	»	»	»
57	»	38 —	96	75 —
63	»	37 —	64	75 —
67	»	36 —	48	90 —
70	»	42 —	40	180 —
75	»	46 —	24	200 —

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 5 :

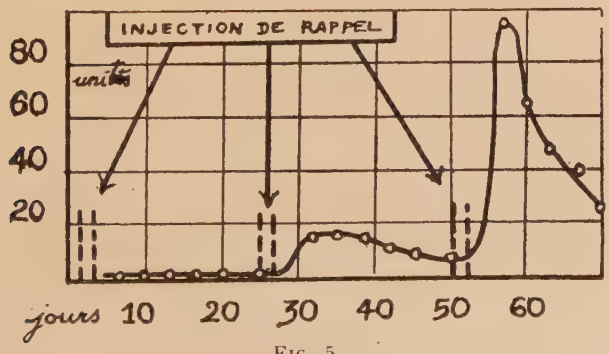

FIG. 5.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

TABLEAU VII

2e groupe. — Lapin 14 : poids, 2,300 kg.; ♂

Jours	Injection de rappel	Volume de sang prélevé	Titre en anticorps	Temps de floculation dans la zone d'équivalence
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	30 cm³	8	84 minutes
10	»	32 —	12	»
13	»	35 —	12	60 —
17	»	32 —	10	94 —
20	»	35 —	8	120 —
25	5 cm³	26 —	4	160 —
27	5 cm³	»	»	»
32	»	36 —	32	26 —
35	»	34 —	28	26 —
38	»	42 —	24	45 —
42	»	32 —	10	50 —
45	»	37 —	6,5	80 —
50	5 cm³	40 —	5	100 —
52	5 cm³	»	»	»
57	»	49 —	32	25 —
60	»	40 —	40	28 —
63	»	47 —	28	35 —
67	»	41 —	20	48 —
70	»	46 —	14	80 —
75	»	48 —	10	90 —

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 6 :

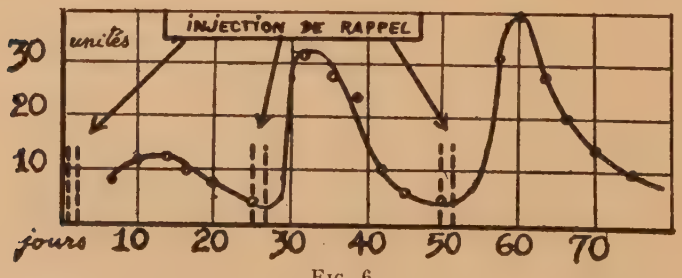

Fig. 6.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

TABLEAU VIII

3e groupe. — Lapin 48 : poids, 2,400 kg.; ♀

Jours	Injection de rappel	Volume de sang prélevé	Titre en anticorps	Temps de floculation dans la zone d'équivalence
1	5 cm³	»	»	»
3	5 cm³	»	»	»
7	»	»	»	»
10	»	33 cm³	64	16 minutes
13	»	32 —	40	17 —
17	»	35 —	32	46 —
20	»	30 —	14	64 —
25	5 cm³	31 —	8	90 —
27	5 cm³	»	»	»
32	»	37 —	64	10 —
35	»	36 —	88	11 —
38	»	38 —	32	13 —
42	»	35 —	24	15 —
45	»	36 —	10	20 —
50	5 cm³	38 —	6	30 —
52	5 cm³	»	»	»
57	»	47 —	512	12 —
60	»	46 —	448	13 —
63	»	45 —	384	17 —
67	»	45 —	320	17 —
70	»	45 —	224	30 —
75	»	51 —	160	33 —

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 7 :

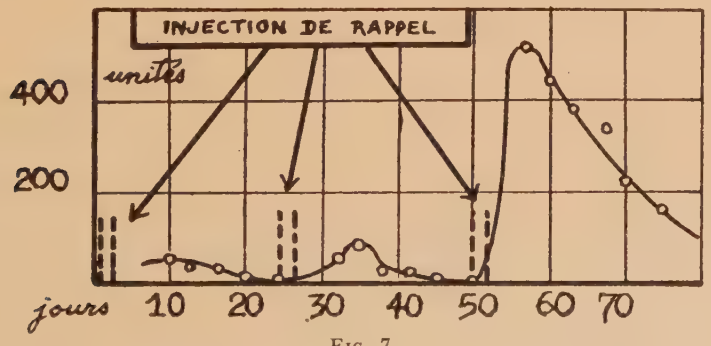

Fig. 7.

Courbe représentative des variations du titre en anticorps en fonction du temps.

L'examen de nos résultats nous permet de constater tout d'abord que, dans les deux cas (lots A et B), la chute du titre en anticorps, pendant la période correspondant à la première série de ponctions, n'est nullement influencée par la réinjection des hématies. Cela ne doit pas nous étonner, car on sait que, le maximum une fois atteint, l'élaboration des anticorps est minime.

Il n'en est plus de même lorsque l'on considère la période qui suit immédiatement les injections de rappels ultérieurs et qui correspond à une activation dans la production des anticorps : on observe alors que, chez les animaux du lot A (anémie à la fois plasmatique et globulaire), les maxima apparus après les injections de rappel se montrent inférieurs aux maxima les précédant. On peut faire une remarque identique en ce qui concerne les minima correspondant à la chute du taux des anticorps.

Autrement dit, si l'on réunit entre eux les maxima ou les minima, on obtient une courbe descendante.

Si l'on examine maintenant les résultats et les courbes correspondant aux animaux du lot B (plasmaphérèse), on constate un phénomène inverse : si, en effet, on réunit entre eux les maxima ou bien les minima, on obtient une courbe montante.

Conclusion. — Ces résultats, particulièrement nets dans 80 p. 100 de nos expériences, nous permettent de conclure que l'anémie globulaire constitue un facteur important dans la genèse des anticorps. Nous constatons, en effet, que l'animal, anémié par des saignées copieuses et répétées, ne conserve plus la même capacité d'élaboration des anticorps que l'animal ayant subi seulement des soustractions plasmatiques.

Au cours de nos essais, nous avons opéré en présence d'héparine, l'un des rares anticoagulants considéré comme n'ayant pas d'action néfaste sur les hématies. Nous pouvions donc penser que l'augmentation du titre anticorps se trouvait directement liée à la richesse du sang en hématies. Malgré cela, nous nous sommes quand même demandé si les globules que nous avions injectés avaient vraiment gardé leur intégrité. Nous avons voulu savoir ensuite si la fonction que nous avions précédemment attribuée à la restitution des hématies n'était pas due plutôt à l'apport de leurs produits de dégradation. C'est pourquoi il nous a semblé indispensable d'étudier en même temps que le titre en anticorps de nos animaux, le taux

en hématies de leur sang. Cette étude va nous permettre par la même occasion de discuter les conceptions de divers auteurs sur la régénération globulaire.

III. — LA RÉGÉNÉRATION GLOBULAIRE CHEZ LE LAPIN

Nous avons profité des expériences précédemment décrites pour effectuer au cours de chaque ponction une numération globulaire (*) ; les résultats nettement probants que nous avons obtenus dans tous les cas nous ont incité à effectuer, chaque fois que cela a été possible, une vérification de nos essais; pour cela, nous avons interverti le traitement de nos animaux dès la troisième série de ponctions : aux Lapins du lot A, qui dans les deux premières séries subissaient des saignées répétées, on réinjectait les hématies à partir de la troisième série; aux Lapins du lot B, chez lesquels on avait pratiqué la plasmaphérèse dans les deux premières séries, on effectuait dans la troisième des saignées sans réinjection des hématies.

Ici encore, nous ne donnerons pas les résultats de toutes nos expériences, nous nous contenterons d'indiquer seulement, pour chacun des deux lots d'animaux étudiés, les résultats obtenus correspondant aux trois Lapins de chaque lot auxquels nous avons déjà fait allusion.

(*) Technique utilisée (voir page 49).

Lot A (anémie expérimentale globulaire et plasmatique)

TABLEAU IX

1er groupe. — Lapin 71

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	30 cm³	3.820.000
10	30 —	2.810.000
13	35 —	2.170.000
17	24 —	3.490.000
20	36 —	3.580.000
25	32 —	4.140.000
32	37 —	2.060.000
35	37 —	1.800.000
38	31 —	2.240.000
42	32 —	2.480.000
45	22 —	2.380.000
50	37 —	2.520.000

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 8 :

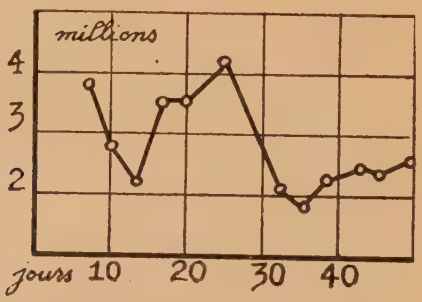

Fig. 8.

Courbe représentative des variations du taux des hématies (par mm³) en fonction du temps.

TABLEAU X

2e groupe. — Lapin 26

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	10 cm³	3.450.000
10	26 —	2.950.000
13	29 —	2.620.000
17	30 —	2.890.000
20	38 —	2.510.000
25	32 —	3.900.000
32	35 —	3.350.000
35	36 —	2.660.000
38	35 —	3.010.000
42	31 —	3.160.000
45	30 —	2.960.000
50	37 —	2.100.000

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 9 :

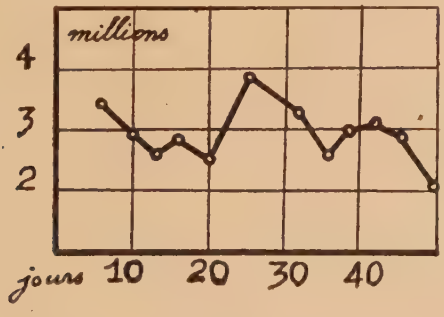

Fig. 9.

Courbe représentative des variations du taux des hématies (par mm³) en fonction du temps.

TABLEAU XI

3e groupe. — Lapin 25

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	35 cm³	3.110.000
10	30 —	2.990.000
13	28 —	2.690.000
17	30 —	2.350.000
20	34 —	2.460.000
25	32 —	3.650.000
32	35 —	3.460.000
35	35 —	2.720.000
38	35 —	2.230.000
42	31 —	2.670.000
45	35 —	3.460.000
50	35 —	3.240.000
57	45 — *	3.040.000
60	42 — *	2.670.000
63	40 — *	2.740.000
67	46 — *	4.410.000
70	48 — *	3.400.000
75	50 — *	3.750.000

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 10 :

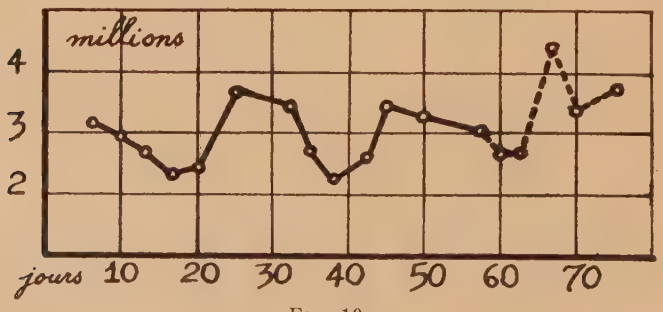

Fig. 10.

Courbe représentative des variations du taux des hématies (par mm³) en fonction du temps.

Etant donné que, parmi ces trois Lapins, nous n'avons pu pratiquer que chez l'un d'entr'eux la réinjection des globules au cours de la troisième série de ponctions, nous avons pensé

qu'il serait intéressant de rapporter ici un exemple supplémentaire (tableau XII et fig. 11).

TABLEAU XII

Lapin 58 : poids, 1,900 kg.; ♂

JOURS	VOLUME DE SANG PRÉLEVÉ	NOMBRE D'HÉMATIES AU MM³
1	Injection de rappel	3.610.000
7	20 cm³	3.350.000
10	25 —	2.700.000
13	26 —	»
17	29 —	2.220.000
20	33 —	2.360.000
25	23 —	3.280.000
32	32 —	3.440.000
35	23 —	2.530.000
38	31 —	2.370.000
42	32 —	2.850.000
45	28 —	3.180.000
50	23 —	3.110.000
57	40 — *	3.280.000
60	37 — *	3.110.000
63	36 — *	2.600.000
67	37 — *	2.820.000
70	43 — *	3.840.000
75	41 — *	3.140.000
82	44 —	3.890.000
85	45 —	3.400.000

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 11 :

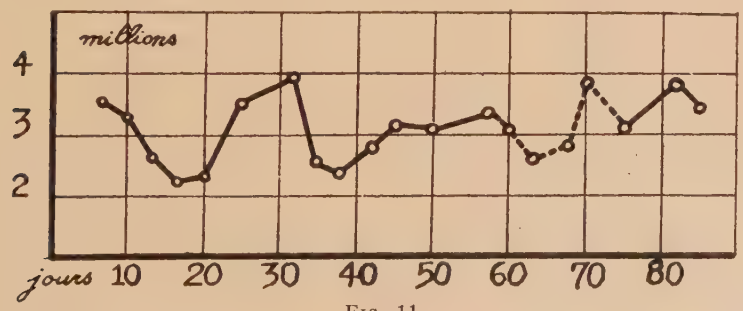

FIG. 11.

Courbe représentative des variations du taux des hématies (par mm³) en fonction du temps.

Lot B (plasmaphérèse)

TABLEAU XIII

1er groupe. — Lapin 17

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	27 cm³*	3.720.000
10	30 — *	2.110.000
13	28 — *	2.350.000
17	25 — *	2.450.000
20	25 — *	3.210.000
25	24 — *	3.400.000
32	34 — *	3.980.000
35	31 — *	3.060.000
38	35 — *	3.100.000
42	32 — *	2.500.000
45	31 — *	2.850.000
50	32 — *	3.850.000
57	38 —	3.470.000
60	37 —	2.760.000
63	36 —	1.750.000
67	42 —	1.920.000
70	46 —	2.680.000

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 12 :

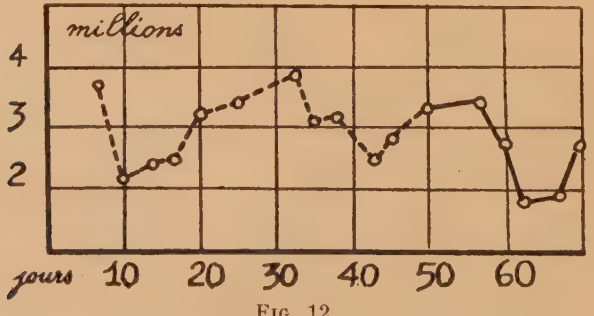

Fig. 12.

Courbe représentative des variations du taux en hématies (par mm³) en fonction du temps.

TABLEAU XIV

2e groupe. — Lapin 14

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	30 cm³*	3.810.000
10	32 — *	3.670.000
13	35 — *	3.120.000
17	32 — *	2.830.000
20	35 — *	2.770.000
25	26 — *	3.900.000
32	36 — *	3.930.000
35	34 — *	3.470.000
38	42 — *	4.170.000
42	32 — *	3.840.000
45	37 — *	3.020.000
50	40 — *	3.300.000
57	49 —	3.440.000
60	40 —	1.890.000
63	47 —	2.580.000
67	41 —	2.230.000
70	46 —	4.460.000
75	48 —	4.040.000
82	44 —	3.890.000
85	48 —	2.300.000

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 13 :

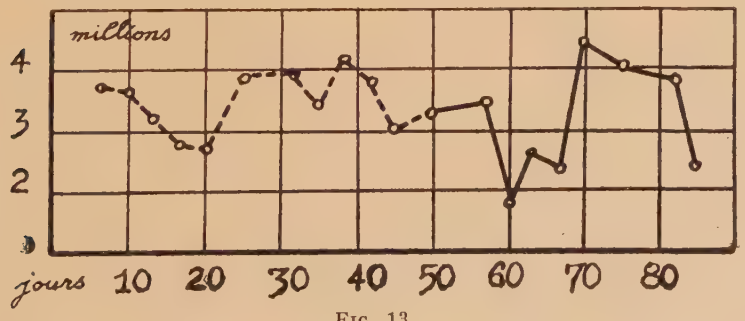

Fig. 13.

Courbe représentative des variations du taux en hématies (par mm³) en fonction du temps.

TABLEAU XV

3e groupe. — Lapin 48

Jours	Volume de sang prélevé	Nombre d'hématies au mm³
1	Injection de rappel	»
7	»	»
10	35 cm³ *	3.630.000
13	32 — *	3.470.000
17	35 — *	3.390.000
20	39 — *	4.040.000
25	31 — *	4.180.000
32	37 — *	3.670.000
35	36 — *	2.850.000
38	38 — *	3.850.000
42	35 — *	3.880.000
45	36 — *	3.270.000
50	38 —	3.700.000
57	47 —	2.810.000
60	46 —	1.810.000
63	45 —	1.120.000
67	45 —	1.200.000
70	45 —	1.560.000
75	51 —	2.660.000
82	34 —	2.840.000
85	48 —	1.800.000

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 14 :

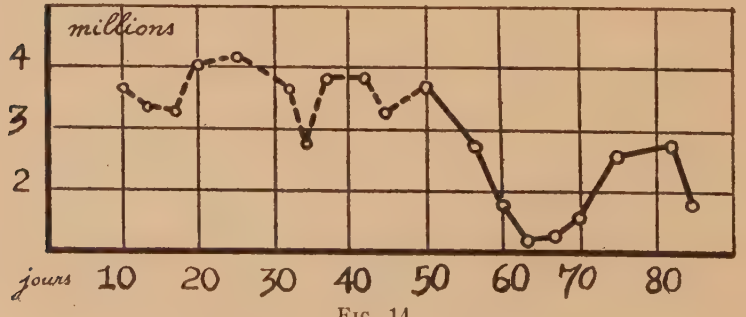

Fig. 14.

Courbe représentative des variations du taux en hématies (par mm³) en fonction du temps.

L'examen des résultats obtenus et des courbes nous suggère un certain nombre de remarques.

Envisageons tout d'abord la portion de courbe correspondant au début d'une série de ponctions. Nous observons alors que, chez tous nos Lapins soumis à d'abondantes et fréquentes saignées avec ou sans réinjection de globules, le taux des hématies subit une diminution notable. Cette diminution se montre identique suivant que l'on considère les animaux du lot A ou ceux du lot B. Nous pouvons donc conclure que la réinjection des globules primitivement enlevés n'empêche pas le taux des hématies de s'abaisser. Doit-on admettre que ces globules se trouvent simplement éliminés ? Nous allons voir plus loin qu'il n'en est rien.

Cette disparition des globules réinjectés peut paraître incompatible avec les recherches effectuées par Dekkers [80] puis par Moulinier [231]; mettant en jeu les propriétés agglutinantes des globules transfusés, ces auteurs ont pu montrer que ces derniers globules n'étaient pas détruits dans le sang du transfuseur. Nos résultats ne sont cependant pas incompatibles avec les leurs, car les hématies que nous avons réinjectées avaient été préalablement lavées plusieurs fois; il est donc probable que ces lavages ou bien la centrifugation ont fait subir au stroma globulaire des altérations facilitant leur histolyse et leur disparition à l'état d'éléments figurés du torrent circulatoire (*).

Afin de pouvoir étudier la régénération globulaire et aussi celle des anticorps, nous avons pris soin, comme nous l'avons d'ailleurs signalé antérieurement, de rendre nos saignées beaucoup moins fréquentes à la fin de chaque série : l'examen de nos courbes montre, en effet, dans tous les cas, une montée nette de la teneur en hématies dès que les ponctions deviennent moins fréquentes.

L'étude comparative de ce phénomène chez les animaux du lot A et chez ceux du lot B montre qu'en moyenne la régénération globulaire s'effectue beaucoup plus rapidement chez les animaux auxquels les hématies sont réinjectées (lot B) que chez les autres; dans le premier cas, le taux des hématies redevient

(*) Les hématies non lavées qui ont été traumatisées dans la centrifugation sont en parties détruites *in vivo* quand on les réinjecte (Fiessenger [106]). Castagnou [61] a noté que l'injection, à un Chien, d'hématies lavées conservées pendant un mois à 4° provoque une légère hémolyse *in vivo*, un peu d'hémoglobinurie et une élévation passagère du taux de l'azotémie.

normal après huit jours environ; dans le second cas, dix-huit jours s'avèrent nécessaires pour obtenir un résultat identique.

Si donc les globules réinjectés se trouvent détruits *in vivo*, comme semblent le montrer les résultats obtenus au début de chaque série d'essais, les produits d'autolyse de ces globules sont très probablement utilisés dans la genèse de nouvelles hématies (*). Les lapins chez lesquels on pratique la réinjection régénèrent en effet beaucoup plus rapidement leurs hématies.

Ces constatations se trouvent confirmées quand on examine ce qui se passe chez les animaux ayant subi, après cinquante jours, un changement dans leur traitement (voir fig. 10, 11, 12, 13 et 14). Si l'on considère les animaux ayant subi pendant cinquante jours des saignées et après ce temps la plasmaphérèse (réinjection des globules), on constate que la régénération globulaire qui fait suite au changement de traitement se montre très notablement active (voir fig. 10 et 11). Si l'on examine maintenant les animaux soumis fréquemment à la plasmaphérèse pendant cinquante jours et ensuite à des saignées répétées sans réinjection de globules, le phénomène est encore plus net : dans ce cas on observe, en effet, une chute très brusque du nombre des hématies (voir fig. 12, 13 et 14). Des résultats absolument comparables ont été obtenus dans d'autres expériences que nous ne rapportons pas ici.

Ces résultats corroborent le rôle incontestable joué par les produits de dégradation des globules réinjectés dans la genèse des nouvelles hématies. Cette action particulière jouée par les produits de dégradation des hématies dans l'érythropoïèse est d'ailleurs bien connue : elle serait à la fois statique et dynamique et diverses substances résultant de la dégradation des hématies se conduiraient comme de véritables catalyseurs (Zih [344], Zaepffec [342] et Weller [334]).

Tous ces faits paraissent bien mettre en évidence l'aptitude compensatrice qu'avaient contractée, à la suite du premier traitement, les organes hématopoïétiques : si un animal se trouve soumis à des saignées répétées, ses organes hématopoïétiques produisent des hématies à un rythme relativement accéléré; si l'on vient brusquement à réinjecter à cet animal ses hématies lavées, et ainsi un matériel hématogénétique, les

(*) On a pu montrer d'ailleurs que la destruction des hématies constituait localement une source d'aminoacides (Loeper, Decourt, Olivier et Lesure [205]). On a même été jusqu'à utiliser la poudre d'hématies dans la cicatrisation des plaies (Brocq et Stephanopoli [48]).

organes hématopoïétiques augmentent d'autant leur rythme de production et l'on constate une montée du taux des hématies. Au contraire, si un animal est soumis à la plasmaphérèse pendant un certain temps, ses organes hématopoïétiques s'adaptent à un certain rythme de production, aidés d'ailleurs dans leur tâche par les matériaux provenant des hématies réinjectées, mais si brusquement on supprime cet apport, les organes hématopoïétiques ne peuvent plus s'adapter immédiatement à un rythme plus accéléré, et il en résulte une chute très nette du taux des globules rouges.

Cette activité compensatrice des organes hématopoïétiques constitue un phénomène classique; on sait, en effet, qu'au cours de la régénération globulaire faisant suite à une anémie par saignées, on rencontre dans le sang des réticulocytes et des hématies polychromatophiles (Copin [71], Théodoridès [322]). La présence de ces éléments jeunes a pu être décelée, non seulement par des examens cytologiques, mais surtout au cours d'études de coefficients respiratoires mettant en jeu la méthode manométrique de Warburg (Amako [1], Morawitz et Itami [230], Kobayashi [187]). D'autre part, un Lapin normal, à qui l'on transfuse régulièrement du sang normal d'un autre Lapin, voit ses réticulocytes sanguins diminuer d'une manière appréciable.

Le mécanisme de l'hématopoïèse constitue un phénomène très complexe, de multiples facteurs étant mis en jeu (*).

La physiologie des organes hématopoïétiques est entrée dans une phase nouvelle à la suite des recherches effectuées non seulement sur les anémies elles-mêmes, mais encore sur les moyens thérapeutiques permettant de lutter contre elles.

Les anémies relèvent de causes multiples : rayons X [15, 8], substances radioactives [191, 4], parasites divers [275, 68, 173, 330, 165, 67, 73, 305, 16, 10, 324, 66, 271], substances toxiques [188, 170], hémorragies abondantes ou répétées, alimentation diversement carencée [132, 76, 5, 229, 14, 276, 93].

Les troubles de l'hématopoïèse peuvent trouver leur cause dans le dysfonctionnement de l'un ou de plusieurs parmi les nombreux mécanismes qui concourent à la formation des hématies; pour l'édification de ces dernières, il faut non seulement des matériaux (aminoacides, noyaux pyrroliques de l'hématoporphyrine, fer, etc.), mais encore des biocatalyseurs,

(*) On lira avec intérêt de toutes récentes mises au point [91, 92].

et en particulier les facteurs anti-anémiques [335, 13, 12, 140, 228, 74, 143, 328, 107, 277, 44, 331, 245, 111, 70, 341, 255, 274, 185, 123, 124, 190].

Dans l'hématopoïèse, il faut aussi dissocier la formation du stroma globulaire de celle de l'hémoglobine. La régénération du stroma et de l'hémoglobine peut ne pas avoir lieu d'une manière parallèle : c'est ainsi que l'on distingue des anémies isochrome, hypochrome et hyperchrome. Rominger et Romskov [276] peuvent arriver, par une alimentation exclusive au lait de Chèvre, à provoquer, chez de jeunes Rats, une anémie hyperchrome et peuvent agir ainsi plus profondément sur le mécanisme de formation du stroma que sur celui de production d'hémoglobine. De même, le fer augmente considérablement le taux de l'hémoglobine tandis que le nombre des hématies reste relativement peu élevé; au contraire, l'hépatothérapie, comme d'ailleurs l'administration de certains aminoacides (tryptophane, histidine, méthionine, etc.), active considérablement la régénération globulaire sans provoquer une production aussi importante d'hémoglobine.

Toutes les substances actives sur l'hématopoïèse agissent donc, d'une manière plus ou moins élective, sur les mécanismes mis en jeu [270].

Toutes ces notions vont nous permettre de reprendre ultérieurement, sur des bases nouvelles, le problème de la genèse des anticorps chez le Lapin, mais auparavant nous exposerons les résultats obtenus au cours de l'étude du plasma chez nos animaux en expérience.

IV. — LA RÉGÉNÉRATION PLASMATIQUE CHEZ LE LAPIN

De nombreux chercheurs se sont attachés à l'étude de la régénération des constituants plasmatiques chez l'animal : certains (Mauriac [221], Fishberg [109, 110], Mauriac, Servantie et Demenier [222, 223]) ont effectué de simples saignées comme nous l'avons fait nous-même chez nos animaux du lot A. D'autres (Ker, Hurwitz et Whipple [186], Machebœuf, Le Monze et Duhart [voir 212]) ont réinjecté les globules après chaque saignée (plasmaphérèse) ; c'est le traitement que nous avons fait subir aux animaux du lot B. La plupart des auteurs précités ont utilisé comme anticoagulant le citrate de sodium; or, d'après de récents travaux, il semblerait que ce sel ait une action néfaste non seulement sur les

hématies [41], mais encore sur l'équilibre lipidique érythro-plasmique [41]. Nous avons évité ces inconvénients en utilisant l'héparine [138].

Là encore, nous ne donnerons pas les résultats obtenus chez tous nos animaux; nous mentionnerons simplement les chiffres obtenus chez les Lapins déjà étudiés à propos de notre étude sur la régénération globulaire. Rappelons que certains, parmi ces animaux, ont subi, après cinquante jours, un changement de traitement; mention en sera faite dans les tableaux consignant nos résultats. Les modifications plasmatiques résultant de ce changement vont nous servir d'ailleurs pour l'interprétation des phénomènes.

Lot A (anémie expérimentale globulaire et plasmatique)

TABLEAU XVI

1er groupe. — Lapin 71

Jours	Volume de sang prélevé	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	30 cm³	71,15	5,60	0,35
10	30 —	89,60	5,85	0,37
13	35 —	80,52	»	»
17	24 —	72,95	7,40	0,26
20	36 —	66,20	4,70	0,30
25	32 —	73,10	3,90	0,20
32	37 —	62,65	8,35	0,39
35	37 —	86,05	7,30	0,39
38	31 —	74,40	15,82	0,76
42	32 —	76,10	10,60	0,55
45	22 —	77,68	12,10	1,22
50	37 —	71,15	6,65	0,47

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 15 :

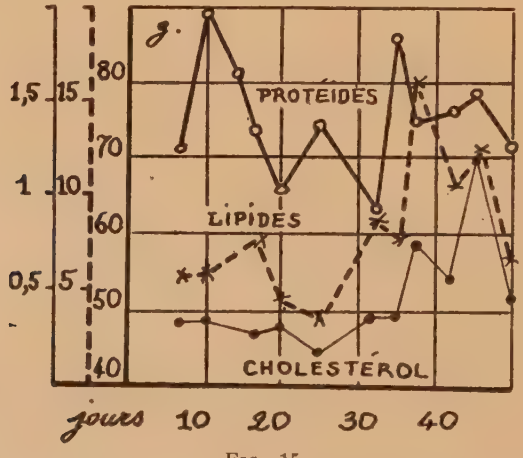

Fig. 15.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

TABLEAU XVII

2e groupe. — Lapin 26

Jours	Volume de sang prélevé	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	10 cm³	»	»	»
10	26 —	70,30	4,85	0,31
13	29 —	70,90	5,10	0,30
17	30 —	67,95	7,85	0,37
20	38 —	61,30	3,75	0,37
25	32 —	63,15	4,65	0,29
32	35 —	71,95	5,35	0,35
35	36 —	69,90	4,90	0,30
38	35 —	69,80	5,95	0,29
42	31 —	68,65	3,65	0,39
45	30 —	72,10	5,95	0,46
50	37 —	68,75	4,30	0,29

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 16 :

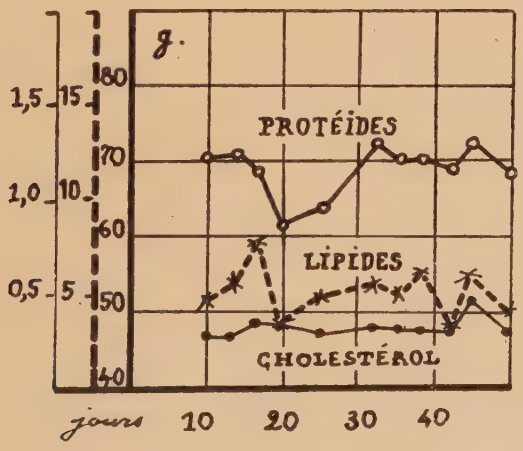

Fig. 16.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

TABLEAU XVIII

3e groupe. — Lapin 25

Jours	Volume de sang prélevé (*)	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
—	—	—	—	—
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	35 cm³	71,05	4,86	0,35
10	30 —	78,55	6,30	0,39
13	28 —	75,85	3,40	0,30
17	30 —	64,95	4,00	0,37
20	34 —	66,30	6,40	0,40
25	32 —	66,95	5,50	0,30
32	35 —	85,65	5,10	0,28
35	35 —	83,20	4,80	0,28
38	35 —	82,15	5,80	0,35
42	31 —	67,30	5,95	0,38
45	35 —	72,65	5,55	0,38
50	35 —	75,40	4,10	0,50
57	45 — *	75,30	5,55	0,59
60	42 — *	80,95	7,30	0,63
63	40 — *	75,95	5,85	1,36
67	46 — *	70,30	5,40	0,95

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 17 :

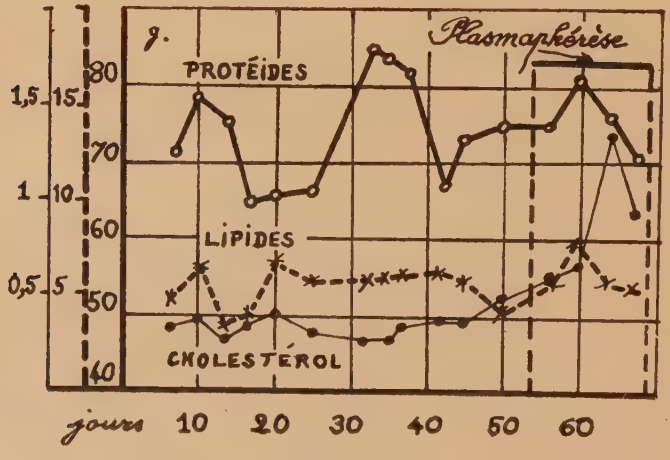

Fig. 17.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

TABLEAU XIX

Lapin 58

Jours	Volume de sang prélevé (*)	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	20 cm³	57,00	1,75	0,11
10	25 —	61,52	3,42	0,15
13	26 —	57,20	1,70	0,15
17	29 —	49,85	5,42	0,24
20	33 —	54,75	4,17	0,31
25	23 —	57,25	2,70	0,13
32	32 —	68,37	1,28	0,11
35	23 —	66,55	3,52	0,15
38	31 —	66,30	3,55	0,18
42	32 —	63,10	4,90	0,23
45	28 —	65,50	3,27	0,21
50	23 —	68,45	2,40	0,15
57	40 — *	73,10	2,50	0,57
60	37 — *	74,00	4,35	0,55
63	36 — *	76,30	2,75	0,55
67	37 — *	70,31	2,80	0,61
70	43 — *	»	»	»
75	41 — *	»	»	»
82	44 —	72,35	3,15	0,31
85	45 —	46,60	6,50	0,59

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 18 :

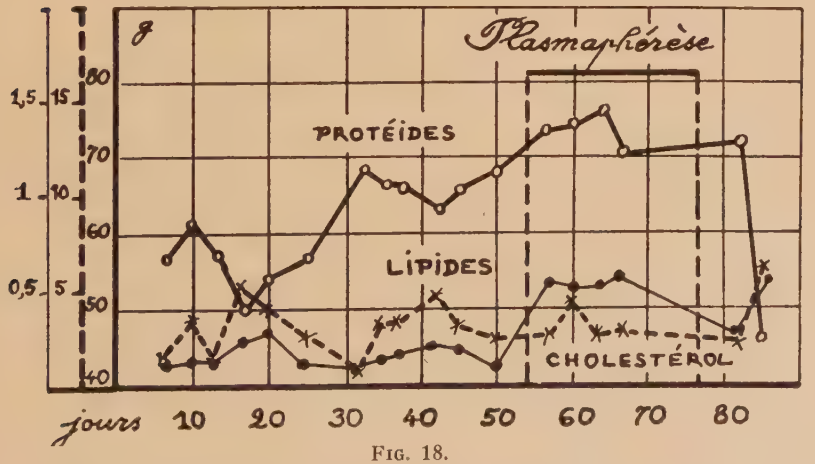

Fig. 18.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

Lot B (Plasmaphérèse)

TABLEAU XX

1er groupe. — Lapin 17

Jours	Volume de sang prélevé (*)	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	27 cm³ *	54,00	4,50	0,24
10	30 — *	49,10	2,50	0,16
13	28 — *	57,25	6,20	0,36
17	25 — *	55,80	8,25	0,32
20	25 — *	58,30	3,90	0,26
25	24 — *	62,95	5,20	0,27
32	34 — *	67,50	5,75	0,41
35	31 — *	59,15	4,40	0,23
38	35 — *	63,75	6,15	0,31
42	32 — *	64,20	5,50	0,40
45	31 — *	55,00	6,00	0,39
50	32 — *	72,95	5,68	0,38
57	38 —	67,25	7,10	0,61
60	37 —	59,00	13,50	1,98
63	36 —	51,50	19,50	2,81
67	42 —	43,20	19,10	1,40

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 19 :

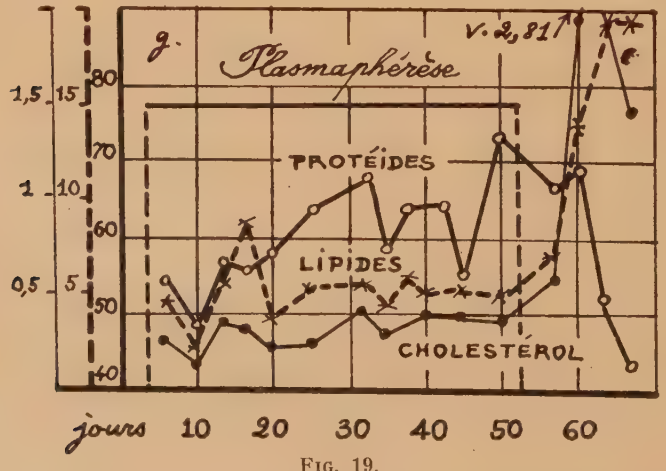

Fig. 19.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

TABLEAU XXI

2e groupe. — Lapin 14

Jours	Volume de sang prélevé (*)	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	30 cm³ *	51,85	3,48	0,23
10	32 — *	57,40	2,87	0,21
13	35 — *	54,75	4,60	»
17	32 — *	52,15	6,90	0,29
20	35 — *	58,10	4,62	0,25
25	26 — *	58,45	5,05	0,30
32	36 — *	68,30	3,52	0,19
35	34 — *	65,50	3,77	0,27
38	42 — *	62,45	5,17	0,29
42	32 — *	64,00	5,00	0,34
45	37 — *	65,80	5,20	0,55
50	40 — *	69,80	2,65	0,27
57	49 —	68,40	4,17	0,51
60	40 —	63,95	9,35	0,57
63	47 —	67,45	4,40	0,71
67	41 —	65,50	7,98	0,91
70	46 —	»	»	»
75	48 —	»	»	»
82	44 —	82,30	4,90	0,63
85	48 —	81,00	6,10	0,56

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 20 :

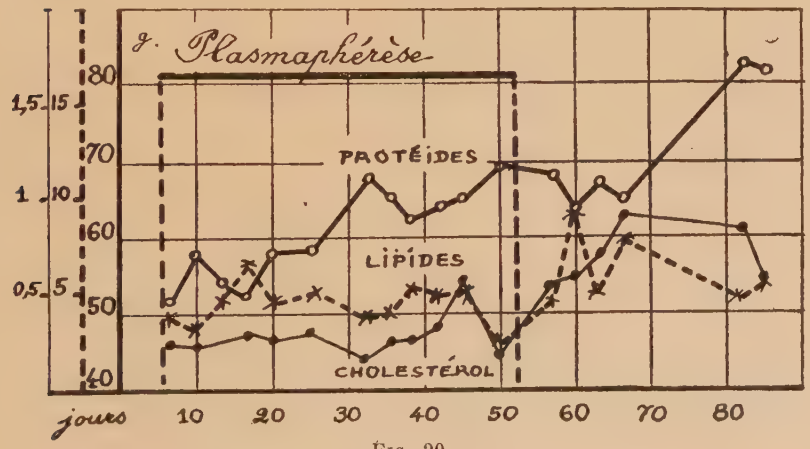

Fig. 20.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

TABLEAU XXII

3e groupe. — Lapin 48

Jours	Volume de sang prélevé (*)	Protidémie (g. par litre)	Lipémie (g. par litre)	Cholestérolémie totale (g. par litre)
1	Inject. de rappel	»	»	»
7	»	»	»	»
10	35 cm³ *	76,45	2,75	0,19
13	32 — *	64,50	2,80	0,12
17	35 — *	67,90	3,77	0,20
20	39 — *	63,30	3,42	0,25
25	31 — *	69,05	3,95	0,19
32	37 — *	84,60	4,67	0,25
35	36 — *	78,20	2,82	0,16
38	38 — *	75,95	4,50	0,27
42	35 — *	70,95	3,95	0,22
45	36 — *	71,90	3,50	0,22
50	38 — *	73,30	3,57	0,33
57	47 —	79,75	3,55	0,51
60	46 —	71,25	9,50	1,40
63	45 —	72,10	8,32	1,70
67	45 —	65,50	10,20	1,20
70	45 —	»	»	»
75	51 —	»	»	»
82	34 —	75,85	4,27	0,59
85	48 —	74,10	4,62	0,65

(*) Les chiffres marqués d'un astérisque signifient que la plasmaphérèse a été pratiquée.

Aux résultats précédents correspond la courbe de la fig. 21 :

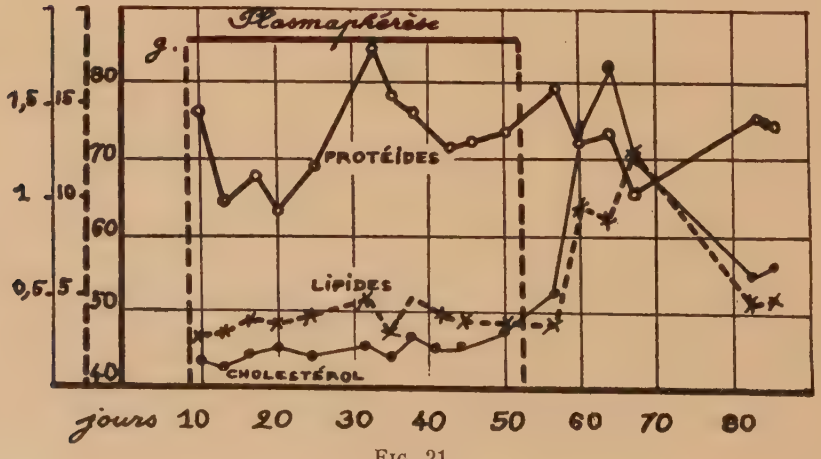

Fig. 21.

Courbe représentative des variations de la protidémie, de la lipémie et de la cholestérolémie totale en fonction du temps.

De cette étude expérimentale on peut conclure ainsi :

1° Le Lapin régénère avec une étonnante rapidité les protéides plasmatiques qu'on lui enlève, et, si l'on désire obtenir une hypoprotidémie appréciable, il faut pratiquer des ponctions très abondantes et très rapprochées;

2° La réinjection des hématies semble à priori n'avoir aucune influence notable sur la régénération des protéides plasmatiques, les Lapins auxquels les globules ont été réinjectés (série B) n'effectuant pas mieux que les autres cette régénération;

3° Lorsque s'installe l'hypoprotidémie, l'hypercholestérolémie n'apparaît pas obligatoirement dès le début, mais elle finit toujours par se produire, comme l'a noté Mauriac [221] (voir en particulier les Lapins 17, 25 et 71);

4° Dans certaines de nos expériences, la lipémie est restée à peu près constante et ne suit pas la cholestérolémie dans ses variations (voir en particulier les Lapins 25 et 14). Ces résultats pourraient paraître divergents de ceux obtenus par M^lle^ Fishberg [109], mais il faut remarquer que les saignées effectuées par cet auteur sont beaucoup plus fréquentes que les nôtres : ceci nous permettrait donc de penser que l'hyperlipémie représente un phénomène secondaire à l'hypercholestérolémie;

5° M^lle^ Fishberg a remarqué que des Lapins soumis à de très fréquentes et abondantes saignées (30 cm^3 environ tous les jours) présentent, après quelques jours, une nette hypoprotidémie accompagnée d'une hyperlipémie et d'une hypercholestérolémie compensatrices. Machebœuf et ses collaborateurs [212] qui, dans leurs expériences, ont provoqué simplement une anémie plasmatique (plasmaphérèse) n'ont pas observé ce phénomène; Machebœuf en conclut que, pour obtenir l'hypoprotidémie et l'hyperlipémie, il faut provoquer l'anémie totale. Au premier abord, nos recherches confirment cette assertion, car les Lapins qui ont présenté le tableau décrit par M^lle^ Fishberg (hypoprotidémie, hypercholestérolémie, œdèmes) sont précisément ceux chez lesquels, après cinquante jours de traitement, nous avons cessé de réinjecter les hématies (voir en particulier les Lapins 48 et 17).

Mais il convient de noter également que, parmi nos animaux, il en est qui ont subi autant de ponctions que les précédents,

auxquels les hématies n'ont jamais été réinjectées, et qui n'ont présenté ni hypoprotidémie, ni hypercholestérolémie (voir en particulier les deux premières séries de ponctions du Lapin 58) (*). Cette remarque, d'ailleurs, n'infirme en rien les conclusions de M^lle^ Fishberg, cet auteur ayant effectué des saignées beaucoup plus fréquentes que les nôtres, mais elle permet, avec nos observations antérieures, de mieux comprendre le mécanisme de la régénération des protéides plasmatiques.

On peut penser, en effet, que chez l'animal fatigué auquel les hématies ont été réinjectées, les organes hématopoïétiques et protidogénétiques fonctionnent à un certain rythme. Vient-on à cesser ces réinjections et à diminuer ainsi l'apport de matériaux importants, ces organes ne peuvent plus dès lors s'adapter immédiatement à la nouvelle situation et faire face à des besoins très augmentés, il en résulte de l'hypoprotidémie et de l'hypercholestérolémie compensatrices.

Au contraire, chez l'animal ayant simplement subi des saignées, les organes hématopoïétiques et protidogénétiques se sont adaptés à une production importante et, si la fréquence des saignées n'augmente pas brusquement, la protidémie et la cholestérolémie arrivent à se maintenir à un taux normal.

Par conséquent, nous pensons que le tableau décrit par M^lle^ Fishberg, qui peut être éventuellement provoqué par une profonde anémie totale, comme l'a pensé Machebœuf, est lié en réalité à l'aptitude que possèdent les organes hématopoïétiques et protidogénétiques de compenser les pertes dues aux saignées. Cette aptitude peut être variable suivant les animaux et surtout suivant le traitement qu'ils ont subi antérieurement.

Nos résultats montrent donc en résumé que, dans une certaine mesure, l'anémie globulaire n'a pas une influence notable dans la régénération des protéides plasmatiques chez le Lapin.

Ils expliquent encore les résultats obtenus par les divers auteurs en ce qui concerne les modifications du sérum chez l'animal soumis à des saignées continuelles, et ils montrent que, suivant la fréquence et l'abondance des saignées et suivant l'état de l'animal, les phénomènes observés peuvent être variables.

(*) Cet essai a été corroboré par d'autres dont nous n'avons pas rapporté les résultats.

V. — DISCUSSION ET INTERPRÉTATION DE NOS RÉSULTATS CONCERNANT LE ROLE DE L'ANÉMIE DANS LA PRODUCTION DES ANTICORPS.

A la suite de notre étude concernant la régénération des anticorps chez le Lapin anémié, nous avons été amené à conclure que l'état d'anémie globulaire se montrait néfaste pour la production des anticorps. Nous faisions abstraction, à ce moment, des altérations subies par les hématies extravasées puis réinjectées. Notre étude sur la régénération globulaire puis sur la régénération plasmatique nous a permis de pénétrer « le mécanisme régénératif » et d'envisager sous un angle nouveau la régénération des anticorps chez l'animal rendu anémique.

Nous avons constaté que les animaux auxquels les globules rouges étaient réinjectés voyaient leur taux en anticorps prendre, après l'injection de rappel, une valeur relative plus grande que les Lapins auxquels les hématies n'étaient pas réinjectées. De même, les animaux subissant la plasmaphérèse régénéraient beaucoup plus rapidement leurs hématies que les autres. Or, rappelons que les hématies réinjectées, telles que nous les avons traitées, ne gardent pas leur intégrité. Nous ne devons donc considérer, dans nos réinjections d'hématies, que leurs constituants et non l'élément figuré lui-même.

Devant ces faits, on se trouve amené à conclure que très probablement ces constituants jouent non seulement un rôle dans la genèse des anticorps, mais encore dans la régénération globulaire. Mais ces substances se trouvent-elles utilisées directement ?

Sur ce point, il serait peut-être prématuré de conclure, car il paraît plausible d'admettre qu'en réalité les anticorps et les globules rouges se trouvent formés à partir de la réserve protidique, éventuellement alimentée par les hématies réinjectées ayant perdu leur intégrité.

Cette hypothèse se trouve d'ailleurs confirmée en partie par deux séries de recherches : celles de Cannon et ses collaborateurs, commencées dès 1942, mais dont nous n'avons eu connaissance que plus tard en raison des événements, et celles de Lemétayer et ses collaborateurs, publiées en même temps que les nôtres [315].

Cannon, Chase et Wissler [54, 55, 56, 57, 340] ont, en effet, montré que, si l'on diminue la réserve protidique d'un animal

immunisé vis-à-vis du Bacille d'Eberth soit par carence alimentaire, soit en associant cette dernière à des saignées, on observe une diminution notable du taux de ses agglutinines. Ruchmann [280], plus tard, a fait des constatations analogues et a montré l'influence des carences alimentaires sur le développement des anticorps neutralisant le virus de l'encéphalomyélite équine.

Lemétayer, Nicol, Mathieu, Girard et Corvazier [201] ont observé chez des Chevaux vaccinés contre le tétanos, et qui subissent des saignées fréquentes en tant qu'animaux producteurs de sérums thérapeutiques divers, une transformation d'un taux normal de l'antitoxine tétanique en un taux limite, et un taux limite en un taux insuffisant.

En considérant ces dernières recherches et les nôtres, il semble que les éléments figurés, plus ou moins lésés et non utilisables tels quels par l'organisme, puissent jouer dans le cas qui nous intéresse le même rôle que les réserves protidiques. Il nous paraît intéressant à ce sujet de rappeler les expériences de Kamagota [182]. Cet auteur a montré que, si à un Lapin immunisé on injecte une appréciable quantité de sang d'un Lapin normal, on voit le titre en anticorps s'élever assez rapidement. Kamagota attribue uniquement au sérum transfusé un rôle stimulant dans l'élévation des anticorps. Nous pensons ici encore que l'organisme du Lapin ayant à sa disposition un excès d'hématies n'a pas besoin, pendant un certain temps, de prélever dans ses réserves les matériaux nécessaires à l'élaboration des globules (*). Ces matériaux peuvent donc être réservés à d'autres fins, et en particulier à l'élaboration des anticorps.

On peut alors mieux comprendre, à la lumière des recherches effectuées par Ehrich et Harris [96, 147], puis par White, Dougherty et Chase [337, 88] à propos de l'origine lymphocytaire des anticorps, que l'on puisse concevoir « la même réserve protéidique » comme pouvant servir à la fois à l'élaboration des anticorps et à la formation des hématies. On comprend encore qu'au cours de certaines affections, le tissu érythropoïétique par excellence, la moelle osseuse, fabrique en plus des hématies et des polynucléaires des éléments de la lignée lymphoïde [105] et inversement (**).

(*) D'ailleurs, chez des animaux recevant du sang de même espèce, on observe une diminution des réticulocytes, ce qui signifie un ralentissement de l'érythropoïèse [71].

(**) En utilisant des « stimuli d'alarme », Selye et Foglia [302] provoquent la transformation de ganglions lymphatiques ordinaires en ganglions hémo-lymphatiques.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Nous avons étudié les variations du taux en anticorps chez des Lapins immunisés soumis soit à d'abondantes et fréquentes saignées, soit à la plasmaphérèse.

Cette étude nous a permis également de discuter le mécanisme de la régénération globulaire et plasmatique.

De nos expériences, il ressort principalement que la production des anticorps se trouve liée à l'activité des organes hématopoïétiques.

CHAPITRE III

RÉACTIVITÉ ET AVIDITÉ DES ANTICORPS

Les immunsérums peuvent être caractérisés non seulement par leur spécificité et leur titre en anticorps, mais encore par la vitesse avec laquelle les anticorps qu'ils contiennent se combinent à l'antigène correspondant.

Cette dernière notion présente même un intérêt pratique, et l'on sait depuis longtemps déjà que l'effet curatif d'un sérum antitoxique ne se montre pas forcément parallèle à son titre en antitoxine; on sait encore que cette constatation se trouve liée surtout à la vitesse avec laquelle l'anticorps se combine à l'antigène.

Si le titre en anticorps d'un immunsérum renseigne sur la quantité d'antigène qu'il s'ayère capable de neutraliser, il ne permet pas de prévoir son pouvoir curatif. Pour désigner ce dernier, KRAUS [189] a proposé jadis le terme *avidité,* qui caractérise en somme, pour un sérum antitoxique, la vitesse avec laquelle il se montre capable d'anihiler l'action de la toxine correspondante.

A la suite des recherches de RAMON sur la titration de certains immunsérums par la méthode de floculation, on a cherché à savoir s'il n'existait pas de rapports entre le degré d'affinité de ces différents sérums pour la toxine correspondante et la vitesse de floculation (*) (GLENNY et ses collaborateurs [131], SCHMIDT [291]). On a pu tout d'abord montrer qu'il existait effectivement un certain parallélisme entre ces deux notions et que, de plus, la vitesse de floculation des

(*) RAMON avait déjà signalé, dans son mémoire original, que des sérums de même titre en anticorps floculaient en des temps parfois très variables.

immunsérums se montrait totalement indépendante de leur titre en anticorps.

Voulant par la suite préciser davantage ces notions, Glenny et Barr [130] considéraient qu'en réalité l'avidité d'un immunsérum se trouvait davantage rattachée à la stabilité de la liaison antigène-anticorps qu'à la vitesse avec laquelle ces deux éléments se combinent. Malgré cela, on tend de plus en plus aujourd'hui à confondre l'avidité selon Kraus et la vitesse de floculation, en raison du parallélisme indéniable qui existe entre ces deux notions (*). Le terme *avidité* correspond, dans la langue des immunologistes, et lorsqu'il s'agit de précipitines, à la vitesse de floculation.

Schmidt [291] considère l'avidité comme constante et déterminée par un facteur spécial caractéristique pour chaque individu. C'est cette dernière assertion de Schmidt qui, à la lumière de nos résultats expérimentaux, va faire l'objet de la discussion princeps de ce chapitre.

Cette notion d'avidité des immunsérums constitue un phénomène très général; au début, l'avidité n'avait été étudiée qu'avec les antitoxines mais, par la suite, elle a été étendue aux précipitines et même aux agglutinines [34, 37, 38, 39].

Constatant la généralité du phénomène et profitant des connaissances récentes sur le mécanisme de la réaction antigène-anticorps, Boyd [40] a pu effectuer des recherches qui l'ont conduit à émettre des hypothèses sur le mécanisme de l'avidité. Selon cet auteur, trois explications viennent à l'esprit :

a) Variations du nombre des *motifs spécifiques* par molécules d'anticorps. On conçoit fort bien, en effet, que si une molécule d'anticorps se montre plus riche qu'une autre en *motifs spécifiques,* la combinaison avec l'antigène a plus de chance de s'effectuer rapidement;

b) Différence de solubilité, souvent liée à la réactivité;

c) Variations dans la spécificité du motif. On comprend que si le motif spécifique de l'anticorps s'éloigne quelque peu du groupement déterminant de l'antigène, la vitesse de la réaction entre ces deux corps se trouve quelque peu ralentie.

Plus tard, nous aurons l'occasion, en discutant les résultats de nos essais, de revenir sur l'une de ces hypothèses.

(*) Il ne s'agit, bien entendu, que d'un parallélisme, car on sait que la vitesse de floculation d'un immunsérum varie suivant les conditions dans lesquelles on opère (voir p. 32).

Il est donc un fait bien établi : deux animaux qui, avec un même antigène, arriveraient à produire une même quantité d'anticorps, peuvent présenter, et c'est ce qui se produit généralement, des sérums ayant des avidités différentes. Cette notion d'avidité, nous l'avons déjà noté, se montre indépendante du titre en anticorps; elle constituerait, selon SCHMIDT, une constante propre à l'animal. Mais que devient cette avidité si nous venons à modifier l'état général de cet animal en le rendant anémique à l'aide de saignées par exemple ?

Ayant à notre disposition deux lots d'animaux immunisés, dont les uns étaient soumis à des saignées fréquentes et abondantes, et dont les autres subissaient, en la plasmaphérèse, un traitement différent, nous avons pu étudier chez ces animaux, et en fonction du temps, les variations de l'avidité de leurs sérums. Les tableaux III, IV, V, VI, VII et VIII, du chapitre II, comportent une dernière colonne dans laquelle nous avons consigné les temps mis par nos sérums à floculer en présence de l'antigène dans la zone d'équivalence.

Tous nos résultats, ceux mentionnés dans les tableaux et ceux que nous n'avons pas rapportés, se sont montrés superposables, aux erreurs d'expérience près. Nous ne rapportons donc ici, sous forme de segments de courbe, que deux essais : ceux correspondant aux Lapins 25 (anémie globulaire et plasmatique) et 48 (plasmaphérèse).

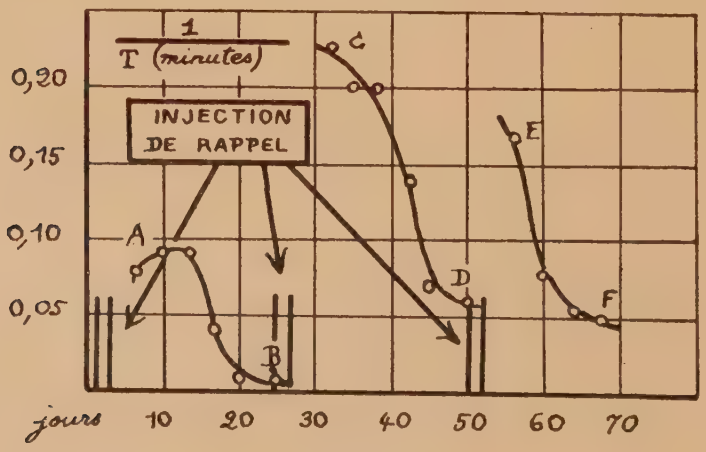

FIG. 22.

Courbes représentatives des variations de la vitesse de floculation de la dilution au 1/8e du sérum du Lapin 25 évaluée en 1/(temps de floculation en minutes) en fonction du temps au cours de diverses séries d'essais.

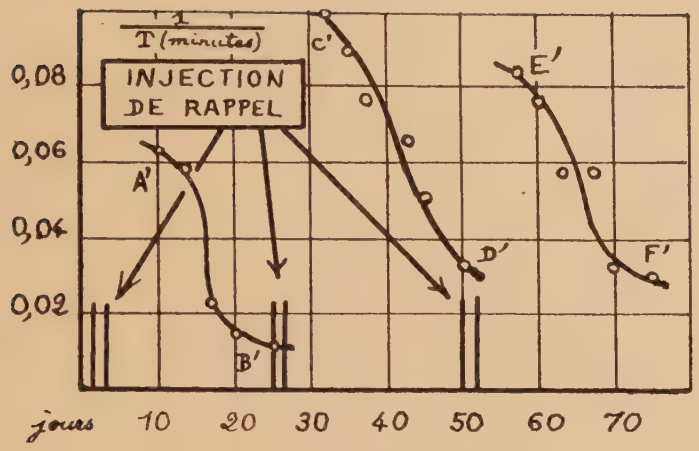

FIG. 23.

Courbes représentatives des variations de la vitesse de floculation de la dilution au 1/8e du sérum du Lapin 48 évaluée en 1/(temps de floculation en minutes) en fonction du temps au cours de diverses séries d'essais.

Le phénomène s'avère complexe. Nous le discuterons successivement au cours de diverses séries qui suivent les injections de rappel.

Envisageons le segment de courbe correspondant à la première série de ponctions. Nous constatons une diminution graduelle de l'avidité; celle-ci semble suivre la baisse du titre en anticorps (voir courbe de la fig. 4, p. 56).

Cette première constatation ne paraît pas confirmer les conclusions de SCHMIDT qui, utilisant la β titration de RAMON, admet que chez un animal immunisé l'avidité de son sérum reste constante; un examen plus détaillé de nos résultats va montrer que cette notion ne saurait être généralisée aux précipitines.

Ainsi que nous l'avons mentionné dans le chapitre sur les essais préliminaires, nous avons effectué nos titrations en anticorps en utilisant l'α titration (DEAN et WEBB) dans laquelle nos immunsérums avaient été préalablement dilués au 1/8e. Chaque fois, et cela est indispensable si l'on veut obtenir des titres en anticorps comparatifs (voir p. 47), nous avons opéré à cette dilution. Si nous considérons l'origine de la courbe (fig. 4 et 22) au point A, nous avons affaire à un sérum dilué dont le titre en anticorps est de 80 unités. Si nous considérons mainte-

nant le point B, nous trouvons 24 unités. Ces deux sérums, au point de vue de leur vitesse de floculation déterminée lors de la titration, ne sont pas tout à fait comparables.

Pour éviter cet inconvénient, nous avons effectué une seconde série d'expériences (voir fig. 24) suivant le mode opératoire précédemment décrit. Nous avons également noté, lors de la détermination du titre en anticorps, les temps de floculation dans la zone d'équivalence et en particulier aux points A et B.

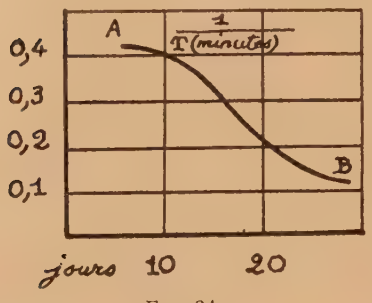

Fig. 24.

Courbe représentative des variations de l'avidité (relative) du sérum du Lapin 91 (évalué en 1/temps de floculation en minutes).

Le titre en anticorps est de 32 unités (point A) et de 16 unités (point B), le temps de floculation vingt-quatre minutes (point A) et soixante minutes (point B).

Nous pouvons conclure qu'au point A, la dilution au 1/8e, utilisée lors de la titration, contient 4 unités par cm³, et au point B, 2 unités par cm³. Connaissant maintenant les titres en anticorps de nos sérums, il est possible dès lors d'effectuer des dilutions; nous pouvons ainsi, soit diluer doublement la solution du premier sérum (A) pour l'amener à la même concentration en anticorps que la dilution du second (B), soit diluer seulement au quart (au lieu du 1/8e) le second sérum (B), afin que la concentration en anticorps de la dilution soit la même que dans la dilution (au 1/8e) du premier sérum.

Nous avons alors constaté qu'en opérant ainsi, nous obtenions des temps de floculation très voisins, soixante et une et soixante-huit minutes dans le premier cas, vingt-quatre et vingt-deux minutes dans le deuxième cas.

D'autres essais, que nous ne rapportons pas ici, effectués suivant le même protocole, corroborent entièrement les premiers résultats.

Nous pouvons donc admettre qu'au cours de la période que nous venons d'étudier (première série d'essais), l'avidité des immunsérums a conservé une même valeur, contrairement à ce que l'on pouvait penser, si l'on se contentait d'examiner la

courbe sans chercher à l'interpréter. Cela confirme l'assertion de Schmidt.

Envisageons à présent le segment de courbe C D correspondant à la période qui suit la seconde série d'injections de rappel. Nous constatons que cette courbe présente la même allure générale. Cependant, elle ne correspond pas aux mêmes valeurs que la précédente, car l'avidité des sérums après la seconde série d'injections de rappel se trouve très notablement augmentée, parfois même du simple au double. Or, le temps de floculation de ces immunsérums est fonction de la dilution : nous avons vu précédemment, en effet, que plus un sérum est dilué, plus son temps de floculation est augmenté.

En examinant les résultats correspondant aux animaux du lot A, nous aurions pu nous attendre à obtenir, dans la deuxième série d'essais, des vitesses de floculation moindres que dans la première série puisque la concentration en anticorps a diminué (voir fig. 2 et 3). Or, c'est l'inverse que l'on observe.

D'autre part, si l'on considère le lot B dont les maxima correspondant au titre en anticorps augmentent (voir fig. 6 et 7), on observe ici une augmentation de la vitesse de floculation dans la zone d'équivalence; mais cette augmentation n'est pas du tout proportionnelle à la montée du titre en anticorps.

Si, enfin, nous examinons les troisièmes segments de courbe, nous observons dans les deux cas une diminution de la vitesse de floculation, alors que dans un cas (lot A) le titre en anticorps s'est abaissé, et que dans l'autre cas (lot B) il s'est élevé.

Ces résultats, qui portent sur des valeurs très appréciables, montrent que l'avidité d'un immunsérum peut avoir des valeurs différentes chez un même animal. C'est ce qui se passe, nous venons de le voir, après de nouvelles injections de rappel.

Cette conclusion montre que les conceptions de Schmidt, relatives à l'avidité des antitoxines, caractéristique constante de chaque individu, ne sauraient être étendues aux précipitines.

Ces observations apportent un nouvel argument en faveur des modifications que se montrent susceptibles de subir les anticorps *in vivo* après l'hyperimmunisation. On savait déjà que, si un animal immunisé se trouve soumis à une hyperimmunisation, les nouveaux anticorps qu'il produit présentent une spécificité plus élargie [160, 162]. Nous montrons, en

outre, que ces anticorps modifient leur affinité pour l'antigène (*).

INTERPRÉTATION

Cette affinité peut être mise en évidence mieux encore si l'on compare ce qui se passe entre les deux lots d'animaux que nous avons traités. Nous constatons, en effet, que les animaux du lot A, qui ont subi des saignées fréquentes et abondantes, et dont la « capacité productive » en anticorps va en diminuant, élaborent des précipitines dont l'avidité croît considérabelment de la première à la seconde série d'injections de rappel; cette avidité décroît ensuite au cours de la troisième série. Les animaux du lot B, auxquels les hématies ont été réinjectées et dont la « capacité productive » en anticorps peut continuer à augmenter avec le temps, élaborent, au cours de la deuxième série d'injections de rappel, des précipitines dont l'avidité est peu augmentée par rapport à la première; cette avidité décroît ensuite au cours de la troisième série.

Le phénomène se montre donc nettement plus accentué avec les animaux du lot A qu'avec ceux du lot B.

Pour expliquer ces constatations, nous proposerons une hypothèse basée sur la conception de Boyd [40], selon laquelle l'avidité d'un anticorps est fonction du nombre de « motifs spécifiques » qu'il contient. Au cours de la première série d'injections de rappel, on obtient des anticorps pourvus d'un certain nombre de « motifs spécifiques » : dans la seconde série, ce nombre grandit, ce qui expliquerait l'augmentation observée dans l'avidité. Mais, cette augmentation ne saurait être illimitée. Il semblerait d'ailleurs que l'enrichissement d'une globuline en « motifs spécifiques », dont dépend l'avidité, constitue une « réaction » relativement lente : l'animal qui élabore rapidement une quantité élevée d'anticorps (lot B) au cours des hyperimmunisations successives présente des précipitines relativement peu avides, tandis que celui qui débite de plus en plus lentement ses anticorps produit au contraire des précipitines beaucoup plus avides.

(*) On peut rapprocher ces faits de l'observation suivante : si on soumet à la même série d'inoculation d'anatoxine diphtérique un lot de Chevaux à réactions de Schick négatives, et un deuxième lot à réactions positives, la floculation est constamment plus rapide avec le sérum des Chevaux du premier groupe. Cette avidité plus grande des anticorps fournis par les animaux du premier lot serait due à l'immunisation occulte qui se manifeste par la réaction de Schick négative.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

L'avidité des précipitines (système sérum de Cheval-antisérum de Lapin) ne constitue pas une constante caractéristique de chaque animal : nous avons, en effet, montré qu'au cours de périodes d'immunisation successives, cette avidité n'avait pas la même valeur.

Nos résultats relatifs aux précipitines ne se montrent donc pas superposables à ceux trouvés par Schmidt pour les antitoxines.

L'état d'anémie d'un animal qui, nous l'avons vu dans le chapitre précédent, influe très nettement sur la « capacité productive » des anticorps, joue également un grand rôle dans la qualité de ces anticorps qui se montrent susceptibles de présenter des avidités variables.

CHAPITRE IV

LES LIPIDES DANS LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS

Nous avons déjà signalé, dans la partie historique de notre travail, que les lipides s'avéraient capables de jouer un rôle primordial dans les réactions de floculation (voir p. 32). C'est HARTLEY [148] qui, le premier, a insisté sur cette propriété. Par la suite, d'autres auteurs [204, 45, 325, 81, 257] ont repris, avec des systèmes variés, les recherches de HARTLEY et ont conclu, en général, que si un immunsérum peut être délipidé sans perdre sa propriété de se combiner avec l'antigène, il a perdu, d'autre part, ses propriétés floculantes.

I. — LIPIDES ET PROPRIÉTÉS FLOCULANTES

Dans la plupart des travaux, les auteurs ont surtout cherché à préciser le rôle dévolu aux lipides de l'immunsérum. Cependant, HARTLEY a porté son attention sur un système dans lequel non seulement l'anticorps, mais encore l'antigène, étaient représentés par des sérums. Cela lui a permis d'étudier le rôle joué par les lipides contenus dans les deux « agents réagissants ». Les expériences ont porté sur le système : sérum de Cheval-sérum de Lapin anti-Cheval.

En collaboration avec TAYEAU et NEUZIL [314], nous avons repris les expériences de HARTLEY en les élargissant et en étudiant, à l'aide de deux techniques différentes, celle de SAÏAS [283] et celle de HARDY et GARDINER [145] (*), le rôle joué par

(*) Nous avons choisi ces deux méthodes qui possèdent la propriété de ne pas dénaturer les protéides.

les lipides des deux sérums dans le phénomène de précipitation spécifique.

Les résultats obtenus au cours de ces recherches ayant déjà fait l'objet d'une publication détaillée [314], nous nous contenterons de résumer simplement ici les remarques d'ordre général auxquelles nous a conduit cette étude.

Dans une première série d'expériences, nous avons réalisé des délipidations à l'aide de la technique de Saïas (*) [283]. Nous avons constaté alors que la délipidation du sérum de Lapin (anticorps) amène un rétrécissement de la zone de floculation; ce rétrécissement est évidemment d'autant plus net que l'immunsérum utilisé est moins avide. La délipidation du sérum de Cheval (antigène) nous permet de faire la même remarque. La délipidation des deux sérums (antigène et anticorps) montre l'absence de floculation avec un sérum peu avide ou bien un rétrécissement extrême de la zone avec un sérum très avide. Chaque fois que la floculation a persisté, même dans une zone extrêmement réduite, c'est toujours dans le tube correspondant à la zone d'équivalence que cette floculation est apparue la première. Ce résultat montre que l'enlèvement d'une partie des lipides n'a aucune influence sur le titre en anticorps.

La technique de délipidation de Saïas ne permet pas, en effet, un enlèvement total des lipides [235], 20 p. 100 environ de ces substances restent encore fixées aux protéides.

Nous avons donc effectué une seconde série d'essais en utilisant la méthode de Hardy et Gardiner [145], modifiée par Hartley, puis par Horsfall et Goodner [171], qui permet d'obtenir un sérum totalement privé de ses lipides (**). Nos essais ont porté sur des immunsérums présentant des avidités variées; ils nous permettent les conclusions suivantes : en utilisant un sérum très avide, nous constatons que la délipidation du sérum de Lapin (anticorps) amène un énorme rétrécissement de la zone de floculation; la délipidation du sérum de

(*) La méthode de Saïas consiste à épuiser plusieurs fois le sérum préalablement refroidi par de l'acétone anhydre à une température inférieure à — 5°, puis par de l'éther anhydre. On obtient une poudre privée de la presque totalité de ses lipides et soluble dans l'eau physiologique.

(**) Cette technique consiste à épuiser à plusieurs reprises le sérum préalablement refroidi vers 0° par de l'alcool absolu à — 20°, puis par de l'éther anhydre à basse température. Après ce traitement, on obtient une poudre privée de lipides qui se dissout complètement dans de l'eau physiologique.

Cheval (antigène) fait apparaître un rétrécissement appréciable de cette zone, mais moins marqué cependant que dans le premier cas. Enfin, la délipidation des deux sérums provoque la disparition totale des floculats.

Avec un immunsérum peu avide, on obtient un rétrécissement de la zone, si l'on prive de ses lipides le sérum de Cheval, et une disparition totale des floculations, lorsqu'on enlève les lipides du sérum de Lapin ou bien des deux sérums. Constatons encore que, dans tous les cas, les rétrécissements de la zone de floculation se font surtout aux dépens de la région correspondant à un excès d'antigène; on a en somme une zone d'inhibition plus large. Nous pouvons faire, ici encore, la même remarque en ce qui concerne l'influence exercée par les lipides sur le titre en anticorps.

A la suite de ces résultats, on pouvait se demander si les divers lipides que l'on rencontre dans les immunsérums se trouvent responsables au même titre des modifications apportées au phénomène de floculation. On aurait pu croire, en particulier, que le cholestérol jouait un rôle essentiel; Douglas et Dudley avaient montré, en effet, la richesse en cholestérol de certains complexes antigène-anticorps.

II. — CHOLESTÉROL ET PROPRIÉTÉS FLOCULANTES

Mettant en jeu la technique de Tayeau [310], qui permet d'enlever totalement et électivement le cholestérol d'un sérum, Tayeau et Neuzil [313] avaient pu montrer que ce stérol ne jouait aucun rôle dans la floculation : un sérum antidiphtérique, privé de son cholestérol, flocule en présence de toxine diphtérique dans les mêmes conditions que le sérum initial.

Nous avons voulu savoir s'il en était de même dans la réaction sérum de Cheval-antisérum de Lapin.

En utilisant également la technique de Tayeau [310] (*), nous avons pu priver de cholestérol nos deux sérums et étudier, comme dans le cas précédent, les diverses combinaisons possibles. Nos recherches nous permettent de constater que le cholestérol ne joue aucun rôle : les sérums privés de leur cholestérol se conduisent comme les sérums-témoins.

(*) Cette technique consiste à traiter un sérum par certains saponosides et l'éther.

III. — CÉNAPSES LIPIDOPROTÉIDIQUES ET PROPRIÉTÉS FLOCULANTES

Il nous semble que, dans le système que nous avons étudié, les phosphatides doivent jouer le rôle essentiel. Horsfall et Goodner [172] ont montré que, si l'on délipide un sérum antipneumococcique, ce dernier perd sa propriété de précipiter lorsqu'on le met en présence d'une quantité convenable de polyholoside spécifique, mais il récupère cette propriété par l'addition de phosphatides. Les phosphatides se montrent, d'ailleurs, capables de modifier la solubilité de certains protéides : si l'on délipide, en effet, les euglobulines du sérum sanguin, on leur fait perdre en majeure partie leur insolubilité dans l'eau (Machebœuf et Tayeau [213]) ; or, cette insolubilité est due non pas à la présence de cholestérol, mais à la présence des phosphatides (Tayeau [311]).

Cette remarque ne saurait être généralisée à tous les systèmes floculants et, à priori, on peut se demander si certains autres lipides ne se montreraient pas capables de faire récupérer le pouvoir floculant à un immunsérum préalablement délipidé. Nous avons porté notre attention sur les savons alcalins.

Machebœuf et Tayeau [214] ont montré, en 1938, que si, à une solution de globulines, on ajoute un savon alcalin et si l'on agite l'ensemble avec de l'éther, ce solvant extrait la totalité des lipides qui étaient préalablement fixés sur les protéides ; d'autre part, le savon alcalin est venu se fixer sur les protéines en formant de nouvelles cénapses globulines-savons.

Nous avons voulu savoir si de telles cénapses, préparées à partir du sérum antidiphtérique (*), avaient conservé leur pouvoir floculant en présence de la toxine diphtérique.

Pour cela, nous avons effectué un certain nombre d'essais. Nous ne mentionnerons ici que l'un d'eux :

A 40 cm³ de sérum antidiphtérique de Cheval, on ajoute 40 cm³ d'une solution saturée en sulfate d'ammonium (et neutralisé à *p*H 7,3) ; on mélange, les globulines précipitent.

(*) Nous avons abandonné, dans cet essai, le système sérum de Cheval-antisérum de Lapin, car nous ne disposions plus, à ce moment, suffisamment d'immunsérum de Lapin.

D'autre part, les expériences effectuées par les divers auteurs avaient montré que c'étaient les lipides liés à l'anticorps qui jouaient le rôle essentiel.

On les recueille par centrifugation après avoir éliminé les eaux-mères contenant les albumines. On obtient ainsi un culot de centrifugation représentant les globulines, souillées d'ailleurs par quelques albumines contenues dans la solution imbibant le précipité. Afin de débarrasser les globulines de ces traces d'albumines, on les redissout dans un volume V d'eau distillée et, à la solution ainsi obtenue, on ajoute V cm^3 de solution saturée en sulfate d'ammonium. Après mélange, les globulines précipitent de nouveau. On soumet l'ensemble à la centrifugation, puis on élimine les eaux-mères. On obtient ainsi un culot constitué par les globulines, encore souillées par la présence de sulfate d'ammonium. Afin d'éliminer la majeure partie de ce sel, les globulines, remises en solution dans l'eau distillée, sont portées à la dialyse sous pression (pour la technique utilisée, voir [218]). La dialyse est arrêtée avant que les euglobulines aient précipité.

On obtient ainsi une solution globulinique mesurant un volume de 40 cm^3. Cette solution est divisée en trois parts :

Une première part (I) servira de témoin et permettra de connaître le titre en anticorps de la solution globulinique;

Une seconde part (II) sera utilisée comme second témoin, afin de voir si les savons, dont on connaît les propriétés cryptotoxiques [329], n'interferaient pas dans la réaction de floculation;

Une troisième part (III), enfin, sera traitée en vue de la préparation des cénapses globulines-savons :

30 cm^3 de la solution globulinique, contenant 1,63 g. de protéides, sont additionnés de 3,6 cm^3 d'une solution N de ricinoléate de sodium (*). Après mélange, on ajoute 30 cm^3 d'éther et l'on agite avec précaution. L'éther est renouvelé plusieurs fois pendant trois jours. Ce laps de temps écoulé, on soutire la phase aqueuse et, à l'aide d'un courant d'azote, on élimine en grande partie l'éther qu'elle contient (**). On prélève, en vue d'analyse, une partie aliquote de cette solution globulinique que l'on soumet à l'appareil de Kumagawa et Suto, à l'épuisement à l'alcool, puis à l'éther, en vue d'effectuer les dosages des protéides et des lipides.

(*) Nous avons volontairement utilisé le ricinoléate de sodium, car il constitue le savon le plus actif dans le phénomène que nous étudions (Tayeau [308]).

(**) Cet éther n'a d'ailleurs aucune influence sur les réactions de floculation (Neuzil [235]).

La solution contient par cm³ :

Protéines	54,4 mg.
Substances solubles dans le chloroforme..	3,85 mg.

L'extrait chloroformique est analysé : on vérifie ainsi qu'il ne contient pas du tout de cholestérol et pratiquement pas de phosphatides (traces indosables). On détermine sa composition de la façon suivante : une portion aliquote est soumise à l'action de la potasse alcoolique à l'ébullition pendant quatre heures. La solution alcoolique est additionnée d'eau, puis d'acide chlorhydrique. Il se forme un précipité entièrement extractible par l'éther. L'analyse quantitative, puis qualitative de l'extrait éthéré montre que les lipides de la solution globulinique, traitée par le savon et l'éther, sont totalement constitués par du ricinoléate de sodium. Par cette technique, nous avons donc bien préparé des cénapses globulines-ricinoléate de sodium.

La part I est additionnée d'un volume d'eau distillée égal au volume de la solution de ricinoléate de sodium ajouté aux parts II et III. Ainsi, les trois fractions présentent la même concentration en anticorps. Dans chacune de ces parts, on étudie la floculation en présence de quantité variable de toxine.

Les résultats que nous avons obtenus dans cet essai et dans les autres, que nous ne rapportons pas, permettent les conclusions suivantes :

1° La présence d'un savon alcalin ne modifie en rien le pouvoir floculant du sérum antidiphtérique;

2° Les savons et le ricinoléate de sodium, en particulier, ne se montrent pas susceptibles, lorsqu'ils sont fixés à l'état de cénapses à des globulines-anticorps préalablement délipidées, de faire récupérer à ces dernières leur pouvoir floculant.

Il paraît donc plausible, à la suite de cette série d'essais, de penser que les phosphatides jouent réellement le rôle essentiel dans le mécanisme de la floculation.

IV. — PHOSPHATIDES ET PROPRIÉTÉS FLOCULANTES

Nous nous sommes alors demandé s'il ne serait pas possible de faire récupérer le pouvoir floculant à un immunsérum préalablement délipidé en combinant des phosphatides avec ses protéides. Nous avons donc effectué, à ce sujet, une nouvelle série de recherches.

Après avoir purifié de la lécithine de Soja par dissolutions

chroroformiques et précipitations acétoniques successives, nous l'avons dissoute dans de l'alcool, puis nous avons ajouté la solution ainsi obtenue à un immunsérum (technique de Hofer [166]) préalablement délipidé par la méthode de Hardy et Gardiner. Nous avions préalablement pris soin de vérifier :

1° Que la quantité d'alcool (1/10e du volume de sérum) ajoutée à l'immunsérum s'avérait insuffisante pour provoquer une dénaturation notable;

2° Que cette même quantité d'alcool, ajoutée au sérum initial, ne gênait en rien la floculation.

Nous avions ainsi à notre disposition un immusérum dont les lipides étaient représentés par de la lécithine de Soja. La solution qui contenait 1,3 mg. de lécithine par cm^3 était parfaitement limpide et, comme l'a signalé Hofer [166], les lécithines se trouvaient à l'état de complexe avec les protéides.

Nous avons pu vérifier que l'immunsérum délipidé sur lequel nous avions fixé de la lécithine de Soja ne récupérait pas ses propriétés floculantes.

Quelle explication pouvons-nous donner à ce résultat négatif ?

Nous pensons que, si les phosphatides jouent un rôle essentiel dans le phénomène de floculation, le type de liaison qui les unit aux protéides doit avoir, lui aussi, une importance primordiale. Or, rien ne prouve qu'en utilisant la méthode de Hofer, la liaison unissant les lécithines aux protéides soit du même type qu'à l'état naturel.

On peut se demander encore si la nature du phosphatide étudié n'entre pas également en ligne de compte. Horsfall et Goodner [172] ont, en effet, montré qu'un immunsérum antipneumococcique de Cheval préalablement délipidé se montre capable de récupérer ses propriétés floculantes par addition de lécithine, tandis que l'addition de céphaline reste sans action; chez le Lapin, on observe le phénomène inverse.

Il est probable aussi que les conditions expérimentales varient avec chaque immunsérum et que les propriétés floculantes se trouvent liées non seulement à la présence des phosphatides, mais encore à la nature de ces derniers et au type de liaison qui les unit aux protéides.

Nous n'avons pas voulu abandonner ces travaux sur le rôle des phosphatides sans avoir effectué une dernière série d'essais mettant en jeu la lécithase [195] du sérum sanguin.

V. — LÉCITHASE ET IMMUNSÉRUMS

Mlle Le Breton et Pantaléon [195] ont mis en évidence la présence d'une lécithase dans le sérum sanguin. Cet enzyme possède la propriété de catalyser l'hydrolyse des lécithines en libérant les deux acides gras (*) ; les lécithines se transforment alors en glycérophosphate de choline. Cette diastase agit surtout lorsque le sérum est soumis à l'action du temps et de la température : lorsqu'un sérum frais, recueilli stérilement, est placé dans une étuve à 37° pendant soixante-douze heures, ses lécithines se trouvent attaquées par la lécithase sérique et se transforment en glycérophosphate de choline, tandis que les acides gras, libérés, vont estérifier, sous l'action catalytique d'un autre enzyme, la cholestérolestérase [195, 196], le cholestérol libre pour le transformer en stérides.

Il était intéressant de savoir si un immunsérum, dont les lécithines étaient transformées en glycérophosphate de choline, avait gardé ses propriétés floculantes.

Dans une première série d'essais, nous avons recueilli un sérum frais de Lapin anti-Cheval et nous l'avons divisé en deux parts :

L'une des parts a séjourné pendant soixante-douze heures à l'étuve à 37°. Nous avons alors étudié ses propriétés floculantes en comparaison avec l'autre part conservée à la température ordinaire et servant de témoin. Nous avons alors constaté que le séjour à l'étuve n'avait nullement modifié les propriétés floculantes de l'immunsérum, dont le titre en anticorps et le temps de floculation avaient conservé la même valeur que le témoin.

Nous nous sommes alors demandé si la part ayant servi de témoin n'avait pas, elle aussi, au cours de ce vieillissement de soixante-douze heures à la température ordinaire, subi des transformations sous l'influence de la lécithase.

Nous avons donc effectué une deuxième série de recherches, identiques aux précédentes, mais cette fois nous avons pris soin de porter le sérum témoin, dès son prélèvement, à la

(*) Cette lécithase serait sans doute différente de la lécithinase (Délezenne et Fourneau) qui catalyse l'hydrolyse des lécithines en enlevant seulement l'acide gras éthénique (transformant des lécithines en lysocithines). On peut se demander si la lécithase représente un enzyme unique; il semble, en effet, curieux que cette diastase puisse arracher en même temps de deux fonctions différentes deux acides gras, eux-mêmes différents.

température de 56° pendant une demi-heure; dans ces conditions, la lécithase sérique se trouve détruite (Le Breton et Pantaléon [195]). Nous avons alors constaté que l'on n'observait encore aucune variation du titre en anticorps et du temps de floculation.

Dans une troisième série d'essais, nous avons porté notre attention, non seulement sur le sérum anticorps, mais encore sur le sérum antigène. Nous avons étudié, en comparaison avec des sérums témoins (portés, une fois recueillis, au bain-marie à 56° pendant une demi-heure), la floculation de divers mélanges dans lesquels le sérum anticorps ou le sérum antigène ou bien les deux avaient séjourné à l'étuve à 37° pendant soixante-douze heures et même plus (jusqu'à cinq jours). Dans tous les cas, les résultats se sont montrés identiques : ni le titre en anticorps, ni le temps de floculation n'avaient subi de modification appréciable.

Quelle conclusion pouvons-nous tirer de nos résultats ?

Il est possible que les propriétés floculantes que nous attribuons aux phosphatides de l'immunsérum ne soient pas liées à la molécule entière, mais seulement à une partie de cette molécule, et en particulier à l'acide phosphorique.

On peut encore penser, ce qui paraît plausible, que dans nos expériences la lécithase sérique a agi simplement sur une partie des lécithines (*); il suffit alors, peut-être, qu'il reste très peu de lécithines pour que soit conservée quand même la totalité du pouvoir floculant.

Ceci permettrait d'admettre que les propriétés floculantes d'un immunsérum se trouvent liées non seulement à la présence de phosphatides, à la nature de ces derniers et au mode de liaison les unissant aux protéides, mais encore à une fraction déterminée de ces phosphatides. Des recherches en cours sur la nature et l'état des divers phosphatides sériques nous renseigneront probablement sur le mécanisme de ce phénomène.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'influence des divers lipides sur les propriétés floculantes des immunsérums.

Après avoir confirmé que les lipides jouaient un rôle primor-

(*) Mlle Le Breton et Pantaléon [195] ont montré que, souvent, l'hydrolyse des phosphatides n'était pas toujours quantitative.

dial dans les phénomènes de floculation, nous avons montré que le taux de ces lipides n'avait aucune influence sur le titre en précipitines : un système floculant délipidé en partie peut encore être dosé par la méthode de floculation.

Tous les lipides n'ont pas la même valeur dans cette propriété. Tandis que le cholestérol n'a aucune influence, les phosphatides, au contraire, paraissent jouer un rôle primordial. Mais le phénomène s'avère assez complexe et il apparaît, à la lumière de nos recherches, qu'il faille attribuer également un rôle essentiel non seulement à certains parmi ces phosphatides, mais encore probablement à leur nature et aux types de liaison qui les unissent aux protéides.

Même en état d'inanition, un animal immunisé conserve toujours, sur ses protéides sériques, d'appréciables quantités de lipides. Ses anticorps pourront donc être dosés par la méthode de floculation. S'il n'en avait pas été ainsi, les résultats exposés dans le deuxième chapitre, concernant le rôle de l'anémie dans la production des anticorps, auraient perdu leur valeur, puisque les anticorps ont été dosés par la technique de floculation. Comme nous le constatons, il n'en est rien.

CHAPITRE V

ACTION DE CERTAINS RÉACTIFS SUR LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS

Au cours de nos expériences mettant en jeu la lécithase sérique, nous avons été amené à effectuer divers essais que nous n'avons d'ailleurs pas rapportés, et dans lesquels nous avions inhibé la diastase par divers réactifs.

Parmi ceux-ci, nous avions utilisé le monobromacétate de sodium [196]. Ayant constaté des modifications importantes dans la floculation, nous avons étudié le phénomène de plus près et nous nous sommes rapidement rendu compte que si le monobromacétate exerce une action inhibitrice sur la lécithase sérique, il agit également sur les protéides et en particulier sur les anticorps.

Cette observation nous a incité à étudier en détail l'action exercée par le monobromacétate de sodium sur la réaction de floculation sérum de Cheval-antisérum de Lapin [252]. Les résultats obtenus au cours de cette étude nous ont conduit à étudier également une autre substance agissant sur les protéides : le formol.

I. — LE MONOBROMACÉTATE DE SODIUM DANS LA RÉACTION SÉRUM DE CHEVAL - ANTISÉRUM DE LAPIN.

Le monobromacétate de sodium ($Br\text{-}CH_2\text{-}COONa$), souvent utilisé dans les synthèses organiques, a attiré l'attention des biochimistes par la propriété qu'il possède de se combiner avec divers produits basiques et avec les amines en particulier (Thacher Clark [319]).

Etant donné le rôle joué par les fonctions amines dans la réactivité des protéides, on pouvait prévoir tout l'intérêt d'une étude concernant l'action de l'ion monobromacétique dans les

multiples réactions biologiques où, le plus souvent, des substances protéidiques interviennent.

Cette étude a surtout été effectuée par Genevois et ses élèves [rôle dans la fermentation alcoolique (Cayrol et Genevois [65], Cayrol [64]), dans la fermentation lactique (Genevois et Nicolaieff [129]), action sur les levures (Genevois, Cayrol et Nicolaieff [126]), action sur les toxines (Genevois et Mandillon [127], etc.] qui ont bien mis en évidence l'action de l'ion monobromacétique sur de nombreux phénomènes biologiques.

Nous avons voulu savoir si le monobromacétate de sodium se montrait susceptible d'apporter des modifications dans la réaction de floculation sérum de Cheval-antisérum de Lapin, dans laquelle l'antigène et l'anticorps, tous deux constitués par des protéides, s'avèrent capables de réagir avec le monobromacétate de sodium.

A. — Etude de la zone d'équivalence

Dans une première série d'essais, nous avons amené les deux sérums (Cheval et Lapin) au même titre en protéides, puis nous avons mis chaque sérum en présence d'une égale quantité de solution de monobromacétate de sodium. Dans les différentes expériences que nous avons effectuées, nous avons fait varier la concentration en réactif, le temps de contact, puis la température d'action entre le sérum et le réactif.

Dans certaines expériences, seul l'antigène avait été traité; dans d'autres, seul l'anticorps avait subi l'action du réactif; dans d'autres, enfin, l'antigène et l'anticorps avaient été soumis tous les deux à l'action du monobromacétate de sodium.

Afin de simplifier l'exposé, nous représenterons les différents mélanges que nous avons effectués par des lettres :

1° Sérum de Cheval normal (antigène) - sérum de Lapin normal (anticorps) : CN - LN;

2° Sérum de Cheval traité (antigène) - sérum de Lapin normal (anticorps) : CM - LN;

3° Sérum de Cheval normal (antigène) - sérum de Lapin traité (anticorps) : CN - LM;

4° Sérum de Cheval traité (antigène) - sérum de Lapin traité (anticorps) : CM - LM.

Nous nous sommes arrangé pour que les concentrations respectives des deux sérums dilués correspondent à la zone

d'équivalence. Nous avons noté le temps de floculation des divers mélanges en comparaison avec le témoin.

Nous avons effectué, ici également, un certain nombre d'expériences; nous ne rapporterons que l'une d'entre elles, toutes les autres s'étant montrées comparables.

Dans nos expériences, nous avons utilisé une solution de monobromacétate de sodium dont le *p*H était de 7,2.

C'est cette solution, amenée à différents titres, que nous avons ajoutée à nos sérums. Nous avons effectué aussi bien avec l'antigène (sérum de Cheval) qu'avec l'anticorps (sérum de Lapin) les mélanges suivants :

A : 1 cm³ de sérum + 7 cm³ eau physiologique (témoin) ;

B : 1 cm³ de sérum + 7 cm³ solution de monobromacétate de sodium N/48;

C : 1 cm³ de sérum + 7 cm³ solution de monobromacétate de sodium N/24;

D : 1 cm³ de sérum + 7 cm³ solution de monobromacétate de sodium N/12;

E : 1 cm³ de sérum + 7 cm³ solution de monobromacétate de sodium N/6.

Dans le tableau XXIII, nous avons indiqué les temps de floculation des divers mélanges pour des quantités variées de monobromacétate mis en jeu et pour des temps de contact divers entre les sérums dilués convenablement et le réactif.

TABLEAU XXIII

Temps de floculation exprimé en minutes.
Témoin (A) = vingt-deux minutes.

LAPIN 51

		TEMPS DE CONTACT A 37°											
		5 minutes			45 minutes			5 heures			24 heures		
		CM-LN	CN-LM	CM-LM	CM-LN	CN-ML	CM-LM	CM-LN	CN-LM	CM-LM	CM-LN	CN-ML	CM-LM
MÉLANGES	B....	32	31	31	29	23	33	31	35	39	33	68	117
	C....	31	32	32	29	23	33	32	41	61	36	113	164
	D....	33	32	33	29	25	34	32	53	93	46	164	301
	E....	33	36	36	32	36	43	33	95	200	60	310	807

L'examen du tableau montre tout d'abord que l'action du monobromacétate de sodium sur les protéines paraît relativement lente aux concentrations auxquelles nous nous sommes placé : nous remarquons, en effet, que les résultats paraissent beaucoup moins constants après un temps de contact inférieur à une heure que plus tard.

Des résultats obtenus, on peut tirer les remarques suivantes :

1° Lorsque l'antigène seul a été soumis à l'action du monobromacétate de sodium, le temps de floculation est à peine augmenté, sauf pour les concentrations très élevées et pour un temps de contact relativement long entre le sérum et le réactif;

2° Lorsque l'anticorps seul a subi l'action du monobromacétate de sodium, on observe un retard très appréciable dans l'apparition de la floculation. Si la concentration en monobromacétate de sodium et le temps de contact entre ce réactif et le sérum de Lapin sont élevés, la floculation ne se produit que très tardivement. Dans certaines expériences effectuées avec des sérums peu avides, on observe parfois la disparition du phénomène de floculation;

3° Lorsque le monobromacétate de sodium a réagi à la fois sur l'antigène et sur l'anticorps, le retard dans l'apparition de la floculation se montre encore plus accusé que dans le cas précédent.

Ainsi que nous l'avions annoncé précédemment, nous avons porté notre attention sur le rôle joué par la température de contact entre le sérum et le réactif. Voici les résultats que nous avons obtenus dans l'une de nos expériences :

1° *Action du réactif sur l'antigène seul :*

TABLEAU XXIV

Solution de monobromacétate de sodium N/2.
Temps de floculation en minutes.
Le témoin flocule en quatre minutes (L = louche après deux heures).

LAPIN 113

Température de contact .		4°	20°	37°	48°
Temps de contact	5 h.	5	5 ½	7	17
	24 h.	6	7 ½	110	L

2° *Action du réactif sur l'anticorps seul :*

TABLEAU XXV

Solution de monobromacétate de sodium N/2.
Temps de floculation en minutes.
Le témoin flocule en quatre minutes (L = louche après deux heures).

LAPIN 74

Température de contact .		4°	20°	37°	48°
Temps de contact	5 h.	4	4	5	L
	24 h.	5	5 ½	L	L

Ces résultats montrent que la température à laquelle agit le monobromacétate de sodium sur les protéides intervient d'une manière appréciable : plus la température est élevée (jusqu'à une certaine limite toutefois), plus le temps de floculation s'accroît.

B. — INFLUENCE DES PROPORTIONS VARIABLES D'ANTIGÈNE ET D'ANTICORPS

Dans une seconde série d'essais, nous avons cherché à savoir si les résultats précités devaient être généralisés aux divers mélanges correspondant à des proportions variables d'antigène et d'anticorps.

Après avoir amené les deux sérums au même titre en protéides, nous les avons soumis en partie à l'action du monobromacétate de sodium dans des conditions identiques de concentration (solution de monobromacétate de sodium N/2), de temps de contact (cinq heures) et de température (37°). Nous avions ainsi à notre disposition l'antigène normal (sérum de Cheval : CN), l'anticorps normal (sérum de Lapin : LN) puis l'antigène (CM) et l'anticorps (LM) traités par le monobromacétate de sodium. Nous avons pu mesurer les temps de floculation des divers mélanges; ces derniers contenant tous une même quantité d'immunsérum de Lapin et des doses variables de sérum de Cheval étaient amenés à l'aide d'eau physiologique à un même volume (α-titration des auteurs anglo-saxons).

Les séries étudiées correspondaient aux quatre types de mélange : CN - LN (témoin), CM - LN, CN - LM et CM - LM.

Les résultats que nous avons obtenus dans l'un de nos essais se trouvent consignés dans le tableau.

TABLEAU XXVI

Temps de floculation en minutes (L = louche après quatre heures).

LAPIN 110

Numéros des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dilution de l'antigène...	1/32	1/48	1/64	1/96	1/128	1/192	1/256	1/384	1/512	1/768
CN - LN	36	28	8	5	4	4	5	6	8	9
CM - LN	38	35	9	5	4	4	5	7 ½	9	10
CN - LM	L+	L++	L+++	52	26	40	58	74	110	174
CM - LM	L	L+	L ++	68	48	60	75	90	148	193

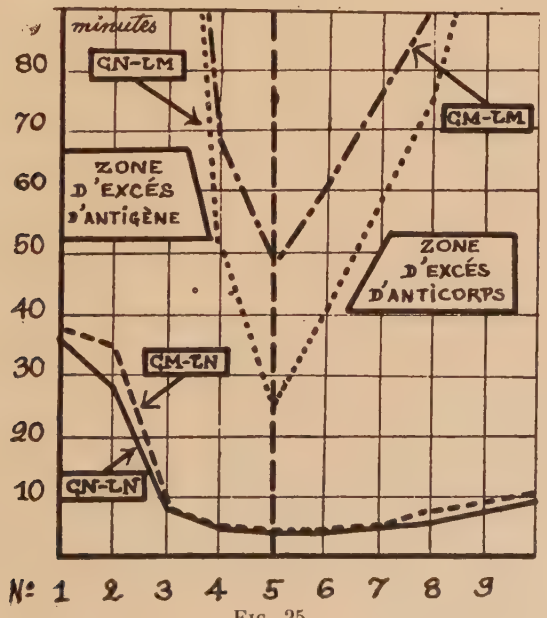

FIG. 25.

A ces résultats correspondent les courbes de la figure 25, qui permettent de constater que les temps de floculation de la série CM - LN se montrent presque identiques à ceux de la série témoin (CN - LN), tandis que ceux des séries CN - LM et CM - LM sont beaucoup plus élevés. On peut donc généraliser à toute la gamme des concentrations les résultats que nous avions notés pour la zone des *proportions optima;* mais on remarque que le retard à la floculation, apporté par l'action du monobromacétate de sodium sur l'anticorps, se montre beaucoup plus important dans la zone d'excès d'antigène que dans celle d'excès d'anticorps. Tandis que les courbes des séries CN - LN et LN - CM sont grossièrement symétriques par rapport à la zone d'équivalence, celles des séries CN - LM et CM - LM ont une pente beaucoup plus accentuée dans la zone d'excès d'antigène.

Nous n'interpréterons les phénomènes observés qu'après avoir rapporté une nouvelle série de recherches concernant l'action exercée par le formol dans la réaction de floculation sérum de Cheval-antisérum de Lapin.

II. — LE FORMOL DANS LA RÉACTION SÉRUM DE CHEVAL-ANTISÉRUM DE LAPIN

Ainsi que nous l'avons signalé dans la première partie de notre travail, l'action du formol sur les antigènes et sur les anticorps a fait l'objet d'un certain nombre de recherches. Les anticorps sont beaucoup plus sensibles que les antigènes à cet aldéhyde : le plus souvent la formolisation des anticorps amène la suppression de la deuxième phase de la réaction antigène-anticorps.

L'action comparée du formol sur l'antigène et sur l'anticorps d'un même système n'a fait l'objet, à notre connaissance, d'aucun travail. C'est pourquoi il nous a semblé intéressant d'effectuer cette étude avec le système sérum de Cheval-antisérum de Lapin, dans lequel l'antigène et l'anticorps sont constitués tous deux par des protéines sériques. Nous avions au préalable, par une dilution appropriée, amené les deux sérums à la même teneur en protéines, puis nous avions mis chaque sérum en présence d'une égale quantité de solution de formol neutralisé. Dans nos différentes expériences, nous avons fait varier la concentration de la solution de formol, la température de contact des sérums avec cette solution et le temps de contact.

Nous avons ensuite réalisé les mélanges suivants :

Sérum de Lapin normal-sérum de Cheval formolé : LN - CF;
Sérum de Lapin formolé-sérum de Cheval normal : LF - CN;
Sérum de Lapin formolé-sérum de Cheval formolé : LF - CF,

de telle sorte que les concentrations respectives des deux sérums correspondent à la zone d'équivalence. Nous avons noté le temps de floculation de ces mélanges. Nous connaissions, bien entendu, le temps de floculation des sérums non traités (LN - CN témoin).

Etant donné que les résultats obtenus dans cette étude ont fait l'objet d'autres publications [236, 237, 235], nous ne mentionnerons simplement ici que les conclusions auxquelles ils ont conduit :

1° D'une manière générale, le formol apporte un retard à la floculation, mais ce retard varie considérablement selon que l'aldéhyde a agi sur l'antigène ou sur l'anticorps : sur l'antigène, le retard n'est sensible qu'à des concentrations en formol élevées et après un temps de contact assez long; il est toujours minime. Au contraire, le retard à la floculation apporté par la formolisation de l'anticorps est toujours plus évident : pour des concentrations et des temps de contact importants, on arrive même à ne plus observer de flocons visibles à l'œil nu, mais seulement une opalescence plus ou moins marquée. Le temps de floculation du mélange LF - CF est toujours un peu supérieur.

2° Lorsque l'on fait varier de 0 à 50° la température de contact des sérums avec la solution formolée, la concentration et la durée de contact étant fixe, on a un accroissement du temps de floculation.

3° Les retards à la floculation sont d'autant plus accusés que les immunsérums sont moins avides.

Dans tous ces essais, nous avons toujours opéré à des concentrations relatives en antigène et en anticorps, répondant aux proportions optima. Nous nous sommes demandé si nos résultats pouvaient se généraliser aux différents mélanges correspondant aux proportions variables d'antigène et d'anticorps.

Nous avons traité, dans les mêmes conditions de concentration en formol, de temps et de température de contact, les sérums antigène et anticorps toujours ramenés à la même concentration protéinique. Ensuite, nous avons noté les temps

de floculation des différents mélanges obtenus en ajoutant à un même volume d'immunsérum de Lapin un égal volume d'une dilution croissante de sérum de Cheval (α-titration des auteurs anglo-saxons), et ceci dans les quatre séries LN - CN (témoin), LN - CF, LF - CN, LF - CF. Nous avons aussi choisi des sérums de Lapin suffisamment avides et des conditions de traitement tels que les temps de floculation ne soient pas exagérément augmentés.

Les résultats obtenus dans l'une de nos expériences sont exprimés par la fig. 26.

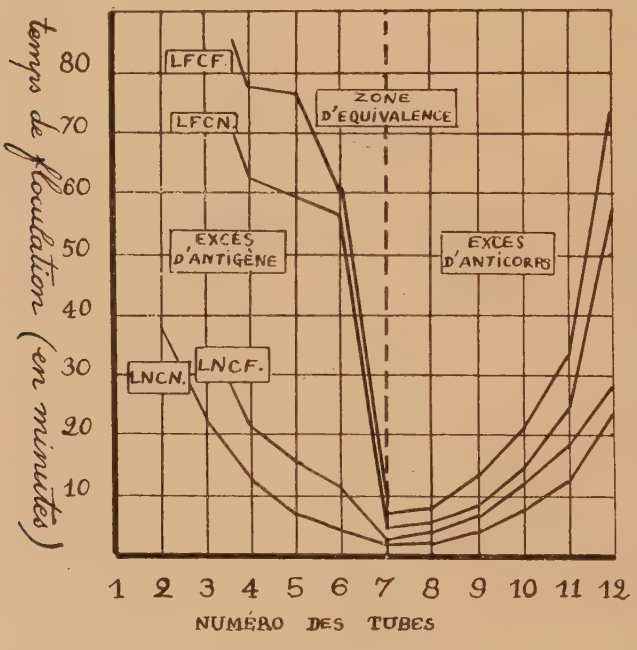

Fig. 26.

Lapin 72. — Solution formolée à 1/200e. Température de contact à 37° : une heure. Chaque tube contient 1 cm³ de sérum de Lapin dilué au 1/8e et 1 cm³ d'une dilution de sérum de Cheval, établie ainsi :

N° du tube.	1	2	3	4	5	6	7	8	etc..
Dilution ..	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	etc...

1° Nous voyons que, dans les différents tubes, les temps de floculation des diverses séries se rangent dans l'ordre suivant ; témoin, LN - CF, LF - CN, LF - CF,

Les temps de floculation de la série LN - CF sont toujours assez voisins de ceux de la série témoin, mais ceux des séries LF - CN et LF - CF sont notablement plus élevés. On peut donc généraliser encore à toute la gamme des concentrations les résultats notés pour la zone des proportions optima.

2° De plus, nous constatons, ici aussi, que le retard à la floculation n'est pas le même suivant que le mélange correspond à un excès d'anticorps ou à un excès d'antigène. Le retard à la floculation apporté par la formolisation de l'anticorps est beaucoup plus important dans la zone d'excès d'antigène que dans celle d'excès d'anticorps.

III. — INTERPRÉTATION GÉNÉRALE

Les résultats obtenus dans cette série d'expériences effectuées avec le formol présentent une grande similitude avec ceux que nous avons obtenus dans nos essais avec le monobromacétate de sodium.

Etant donné que ces réactifs agissent tous deux, entre autres choses, sur les fonctions amines, nous proposerons l'interprétation suivante :

1° L'action du réactif sur l'anticorps doit modifier certaines fonctions du motif spécifique (fonctions qui ne se limitent d'ailleurs pas aux seuls groupements NH_2). Le motif ainsi remanié s'accole d'une manière moins étroite au groupement déterminant de l'antigène; cette diminution de l'attraction réciproque expliquerait le retard à la floculation.

D'autre part, on peut assimiler, avec Dervichian, la molécule protéinique en général et celle des anticorps en particulier [134, 85, 83, 84] à un disque possédant une symétrie ternaire. Le motif spécifique se répète alors nécessairement trois fois sur chaque face de la molécule.

Dans la zone d'excès d'anticorps, un seul motif par face d'anticorps entre en relation avec l'antigène. Dans la zone d'excès d'antigène, au contraire, les trois motifs d'une face d'anticorps sont liés à une molécule d'antigène pour former l'agrégat spécifique.

On comprend alors que le retard apporté par l'action du réactif sur l'anticorps soit beaucoup plus grand que dans la région d'excès d'antigène : dans cette zone, le motif intervient beaucoup plus dans la formation du précipité spécifique.

2° L'action du réactif sur l'antigène n'apporterait que peu

de modifications à son propre motif spécifique, probablement parce que ce motif contient peu de groupements influencés par cet agent, la vitesse de floculation de l'antigène formolé se rapproche donc de celle de l'antigène non traité.

IV. — ACTION COMPARÉE DU MONOBROMACÉTATE DE SODIUM ET DU FORMOL DANS LA RÉACTION SÉRUM DE CHEVAL-ANTISÉRUM DE LAPIN.

Les essais que nous avons rapportés ont mis en évidence une certaine similitude entre l'action du monobromacétate de sodium et celle du formol sur la réaction de floculation que nous étudions : dans les deux cas, l'anticorps (immunsérum de Lapin) se montre beaucoup plus sensible que l'antigène (sérum de Cheval) à l'action du réactif; d'autre part, le retard apporté à la floculation par le traitement de l'anticorps apparaît beaucoup plus nettement en présence d'un excès d'antigène qu'en présence d'un excès d'anticorps. Ce dernier phénomène est cependant beaucoup moins net avec le monobromacétate de sodium qu'avec le formol, car dans le cas du monobromacétate de sodium un retard assez appréciable se manifeste également en présence d'un excès d'anticorps. Ces constatations permettent de conclure que le monobromacétate de sodium paraît agir plus profondément que le formol dans le système floculant que nous avons choisi. Afin de mettre mieux encore en évidence cette différence d'activité, nous avons effectué une nouvelle série de recherches.

En nous plaçant à des concentrations relatives en antigène et en anticorps correspondant aux proportions optima, nous avons étudié, en comparaison avec un témoin, le temps de floculation du système sérum de Cheval-antisérum de Lapin, dans la zone d'équivalence, en fonction du *p*H auquel le réactif étudié avait réagi [317]. Nous avons effectué divers essais dans lesquels l'anticorps et l'antigène avaient préalablement subi le traitement. Ce dernier consistait à amener tout d'abord le sérum au *p*H désiré, puis à ajouter le réactif : après un certain temps de contact, le sérum était ramené à son *p*H initial. Le témoin a toujours subi un traitement identique, le réactif étant simplement remplacé par de l'eau physiologique : nous pouvions ainsi éliminer le rôle éventuel joué sur la floculation, non seulement par le facteur *p*H lui-même, mais encore par l'augmentation de la concentration saline du milieu (due à

l'acidification puis à la neutralisation) : dans les limites de la gamme envisagée, ces deux facteurs n'ont d'ailleurs qu'une minime importance (Schmidt [291, 292, 293]).

Nous avons étudié avec chacun des deux réactifs les systèmes suivants : CN - LN (témoins), CT - LN et CN - LT (*).

Les résultats que nous avons obtenus dans l'un de nos essais sont consignés dans les tableaux XXVII, XXVIII, XIX et XXX.

TABLEAU XXVII

Action du monobromacétate de sodium sur l'antigène seul.

Réactif : solution de monobromacétate de sodium N/2.
Durée de contact du réactif et du sérum de Cheval : cinq heures.
Température de contact : 37°.

*p*H auquel a agi le réactif		9,5	9	8,7	7,7	7,1	6,4	5,6
TEMPS de floculation (en min.)	Réaction	43	12	7 ½	7	22	71	L+
	Témoin	5	4	4	4	4	4 ½	5

TABLEAU XXVIII

Action du monobromacétate de sodium sur l'anticorps seul.

Réactif : solution de monobromacétate de sodium N/2.
Durée de contact du réactif et du sérum de Lapin : six heures.
Température de contact : 37°.

*p*H auquel a agi le réactif		9,4	8,9	8,5	7,7	7,2	6,6	5,9
TEMPS de floculation (en min.)	Réaction	121	15	10	8	9	16	24
	Témoin	4	3	3	3	3	3 ½	4

(*) CN : Sérum de Cheval normal (antigène) ;
CT : Sérum de Cheval traité par le réactif ;
LN : Sérum de Lapin normal (anticorps) ;
LT : Sérum de Lapin traité par le réactif.

TABLEAU XXIX

Action du formol sur l'antigène seul.

Réactif : solution de formol 1/50.

Durée de contact du réactif et du sérum de Cheval : une heure.

Température de contact : 37°.

*p*H auquel a agi le réactif		9,6	9,1	8,7	7,6	7	6,5	5,6
TEMPS de floculation (en min.)	Réaction ..	23	22	13	8	17	90	L+
	Témoin ...	8	7	7	7	7	7½	8

TABLEAU XXX

Action du formol sur l'anticorps seul.

Réactif : solution de formol 1/50.

Durée de contact du réactif et du sérum de Lapin : dix minutes.

Température de contact : 37°.

*p*H auquel a agi le réactif		9,5	9	8,6	7,8	7	6,5	5,7
TEMPS de floculation (en min.)	Réaction ..	L++	120	8	6	5	4	3
	Témoin ...	2	2	2	2	2	2	2½

A ces résultats correspondent les courbes des figures 27, 28, 29 et 30.

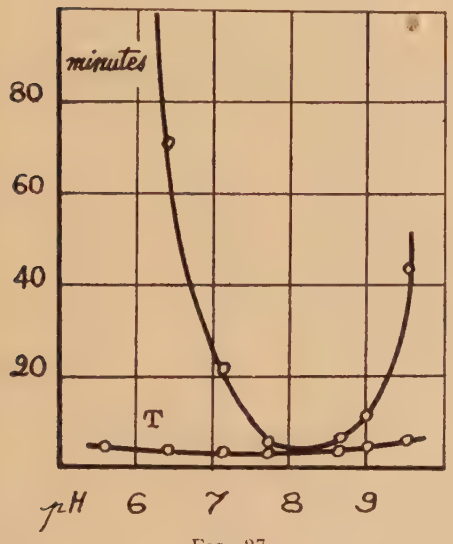

Fig. 27.

Courbe représentative des variations du temps de floculation en fonction du *p*H auquel a agi le monobromacétate de sodium sur l'antigène.

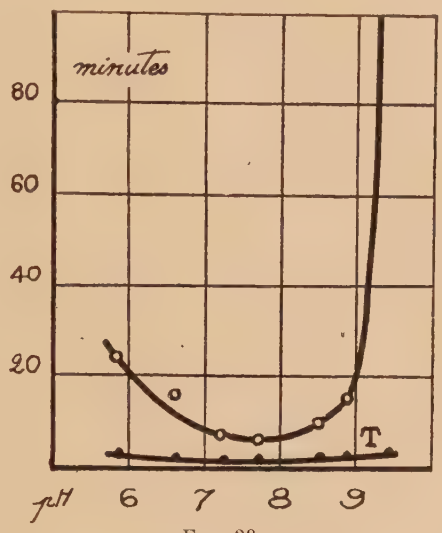

Fig. 28.

Courbe représentative des variations du temps de floculation en fonction du *p*H auquel a agi le monobromacétate de sodium sur l'anticorps.

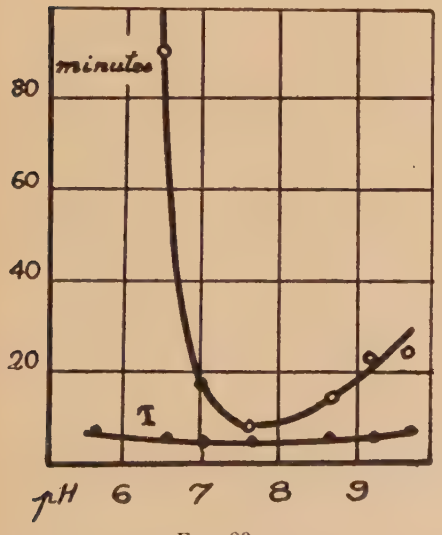

Fig. 29.

Courbe représentative des variations du temps de floculation en fonction du *p*H auquel a agi le formol sur l'antigène.

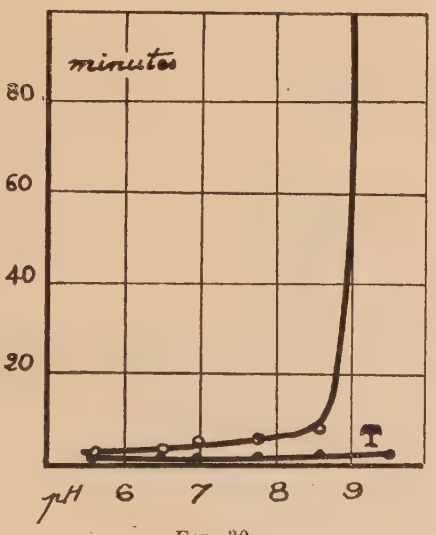

Fig. 30.

Courbe représentative des variations du temps de floculation en fonction du *p*H auquel a agi le formol sur l'anticorps.

Nous nous attendions primitivement à obtenir des temps de floculation d'autant plus grands que le *p*H était plus élevé : on sait, en effet, que la quantité de formol [246, 141, 2, 321] ou de monobromacétate de sodium [227] fixée par un protéide augmente avec le *p*H. Or, seule la courbe de la fig. 30 (correspondant à la formolisation de l'anticorps) présente cet aspect. De nombreux essais, effectués dans des conditions différentes (concentrations diverses en réactif, temps de contact variés, etc.) ont entièrement confirmé nos résultats.

Ces expériences prouvent que le monobromacétate de sodium agit sur les protéides non seulement en milieu alcalin, mais encore en milieu acide (*). Quelle est la nature de cette action lorsque l'on se place en milieu acide ?

On n'est pas encore très bien renseigné sur ce sujet, mais on sait néanmoins que, même en milieu acide, le formol peut se fixer sur les protéides; c'est ainsi qu'à *p*H 5,7, la toxine diphtérique peut encore fixer du formol et perdre son pouvoir toxique, mais il convient de noter que dans ces conditions la fixation du formol est très labile, car après peu de temps le pouvoir toxique réapparaît, alors que rien de semblable ne se produit si le formol a agi en milieu alcalin (Schmidt). D'autre part, les modifications du pouvoir rotatoire et l'apparition de fluorescence observées dans les solutions protéiques ayant subi l'action du formol, ont suggéré à Loiseleur [206] que cet aldéhyde faisait subir à la molécule protéidique de profondes modifications, et amenait probablement la cyclisation de certains aminoacides. Des précisions ont été récemment données en ce qui concerne l'action du formol sur les protéides (théorie du « cross linking ») (Fraenkel-Conrat et Olcott [120], Carpenter [58]).

Il est probable que l'ion monobromacétique amène des modifications du même ordre; des travaux actuellement en cours dans le laboratoire où nous avons travaillé nous renseigneront peut-être sur ce sujet.

Quoi qu'il en soit, nous sommes amené à penser que ces deux réactifs font subir aux motifs spécifiques de l'anticorps d'appréciables modifications.

L'ion monobromacétique se montre le plus actif dans cette action, puisqu'en milieu acide il transforme non seulement l'antigène, mais encore l'anticorps, alors qu'avec le formol,

(*) Peut-être, dans ce dernier cas, se produit-il une hydrolyse du monobromacétate de sodium ?

seul l'antigène paraît, à un *p*H acide, subir des transformations appréciables.

Cette variété d'action entre les deux réactifs doit nous permettre d'envisager par la suite la différence qui existe entre le motif spécifique de l'anticorps et le groupement déterminant de l'antigène.

CONCLUSIONS

Les organismes vivants possèdent le remarquable pouvoir de s'opposer aux perturbations extérieures. Pour cela, ils mettent en jeu divers mécanismes. Parmi ceux-ci, l'immunité joue un rôle essentiel.

Par l'élaboration d'anticorps, les êtres vivants peuvent lutter contre certains agents nocifs (antigènes) comme les bactéries, les toxines, etc.

Pendant longtemps, le terme d'anticorps a masqué notre ignorance; mais, à présent, on commence à être renseigné sur ces substances jadis mystérieuses. On sait aujourd'hui qu'il s'agit de globulines très peu différentes des globulines normales et dont la formation aurait lieu surtout dans les lymphocytes. La libération des anticorps dans la circulation serait liée à un mécanisme hormonal.

Ces anticorps posséderaient dans leur molécule un ou plusieurs *motifs spécifiques* par lesquels ils se combineraient à l'antigène pour le neutraliser et le rendre ainsi inoffensif. Sur le mécanisme de la combinaison antigène-anticorps, on possède peu de renseignements, mais diverses théories permettent d'expliquer la plupart des faits observés.

Certains, parmi les anticorps, sont désignés sous le nom de *précipitines;* lorsque ces dernières se trouvent en présence d'une quantité convenable de l'antigène correspondant, elles forment avec ce dernier un complexe qui précipite; dans certains cas, la formation de ce précipité peut servir de technique de dosage des anticorps.

Toutes ces notions se trouvent développées dans la première partie de notre travail.

Si, depuis quelques années, l'immunologie s'est trouvée enrichie par des découvertes nombreuses et remarquables, de multiples points vulnérables persistent encore. Parmi ces

derniers, nous avons surtout cherché à étudier l'un d'entre eux : le rôle de l'anémie dans la genèse des anticorps.

Mettant en jeu divers lots de Lapins immunisés vis-à-vis du sérum de Cheval et rendus anémiques par des saignées abondantes et fréquentes ou bien par plasmaphérèse (saignée seulement plasmatique), nous avons porté notre attention sur les anticorps de ces animaux. Afin de pouvoir mieux interpréter les phénomènes observés, nous avons en même temps étudié en détail la régénération des globules et du plasma sanguins.

Cette première série d'essais nous a montré que l'anémie constitue un facteur important dans la production des anticorps chez le Lapin : l'animal, profondément anémié par des saignées répétées, voit sa « capacité productive » d'anticorps très nettement diminuer; il n'en est pas de même chez l'animal subissant seulement des saignées plasmatiques.

L'étude comparative du titre en anticorps et de la vitesse de régénération globulaire et plasmatique dans les divers cas étudiés montre que la production des anticorps se trouve liée surtout à l'activité des organes hématopoïétiques.

L'un des facteurs quantitatifs ayant été ainsi mis en évidence, nous avons désiré savoir si la qualité des anticorps se montrait comparable chez l'animal anémié et chez l'animal normal. Pour étudier ce problème, nous avons mesuré l'avidité des précipitines en étudiant leur vitesse de floculation.

Les résultats obtenus nous ont permis de préciser les fluctuations que subit l'avidité des anticorps chez un animal. Cette avidité passe par un maximum au cours d'immunisations successives, et ce maximum se trouve influencé par l'état anémique de l'animal. L'assertion classique de Schmidt, relative aux antitoxines, et selon laquelle l'avidité de ces anticorps représenterait une constante propre à chaque animal, ne saurait donc être étendue aux précipitines.

Désirant pousser plus loin nos investigations, nous avons complété notre étude sur la genèse des anticorps par quelques expériences sur leur réactivité.

Nous nous sommes tout d'abord attaché à étudier l'influence des divers lipides fixés aux protéides dans la floculation du système sérum de Cheval-antisérum de Lapin, dans lequel l'antigène et l'anticorps se trouvent représentés par des cénapses lipidoprotéidiques. Cette étude nous a montré que si les lipides du sérum antigène ne paraissaient pas jouer un rôle essentiel dans la floculation, il n'en était plus de même

pour les lipides du sérum anticorps qui, une fois enlevés, amènent un rétrécissement considérable de la zone de floculation. Si l'on veut cependant supprimer complètement cette dernière, il s'avère nécessaire de délipider les deux sérums.

Toutes les substances lipidiques ne se montrent pas responsables au même titre de cette propriété; nous avons pu démontrer que le cholestérol n'intervenait pas et que le pouvoir floculant se trouvait probablement lié à la présence de phosphatides. Divers essais mettant en jeu la synthèse de cénapses phosphatidoprotéidiques ou la lécithase sérique laissent penser que la nature des phosphatides et la liaison qui les unit à l'anticorps semblent jouer un rôle essentiel.

Ces essais mettent en évidence le fait que certains lipides prennent part à l'insolubilisation du complexe précipitine-antigène.

Les liaisons unissant l'antigène et l'anticorps dans le complexe restent encore mal connues. Nous avons voulu étudier à ce sujet l'influence de certaines fonctions chimiques. C'est pourquoi nous avons désiré terminer notre étude par quelques essais mettant en jeu deux réactifs réagissant avec certaines fonctions des protéides : le monobromacétate de sodium et le formol. Nous avons pu montrer que, dans certaines conditions, l'un et l'autre s'avèrent capables de supprimer le phénomène de floculation. Quelques essais sur les modalités du phénomène nous ont enfin montré que ces deux substances n'agissent pas d'une façon tout à fait identique sur l'antigène et sur l'anticorps.

Ces notions sur la genèse et la réactivité des anticorps étudiés présentent probablement un caractère très général. Nous espérons, par la suite, porter plus spécifiquement notre attention sur l'immunité parasitaire vers laquelle nous nous sommes trouvé orienté dès nos premiers travaux.

BIBLIOGRAPHIE

1. Amako. — *In* Kobayashi (187).
2. Anderson (H.). — *Journ. Intern. Soc. Leather Trades Chem.*, 1934, **18**, 197.
3. Arrhenius (S.). — Immunochemistry, 1 vol., Mac Millan édit., New-York, 1907.
4. Artus (A.), Loureau (M.) et Silvestre de Sacy (G.). — *Le Sang*, 1935, **9**, 226.
5. Aschkenasy (A.) et Aschkenasy-Lelu (P.). — *Le Sang*, 1947, **18**, 544.
6. Ascoli (M.). — *Münch. Med. Wochschr.*, 1910, **57**, 62.
7. Aubertin (C.). — Thèse Méd., Paris, 1905.
8. Aubertin (C.). — *Le Sang*, 1937, **11**, 169.
9. Baivy (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95**, 737.
10. Battaglia (A.) et Esteban Arata (C.). — *Pr. Med. Arg.*, 1936, **18**, 1904.
11. Bayne-Jones (S.). — *Journ. Immun.*, 1925, **10**, 663.
12. Beard (H. H.). — *Journ. biol. Chem.*, 1931, **94**, 135.
13. Beard (H. H.), Baker (R. W.) et Myers (V. C.). — *Journ. biol. Chem.*, 1931, **94**, 123.
14. Beard (H. H.) et Bogges (T. S.). — *Am. Journ. Physiol.*, 1935, **113**, 642.
15. Benda (R.), Thoyer-Rozat (P.) et Urquin (D. A.). — *Le Sang*, 1937, **11**, 885.
16. Bergeret (C.). — *Journ. Pathol. véter.*, in *Le Sang*, 1934, **8**, 969.
17. Berry (L. J.), Davis (J.) et Spies (T. D.). — *Journ. Lab. Clin. Med.*, 1945, **30**, 684.
18. Binet (L.) et Cardot (H.). — *Arch. Intern. Physiol.*, 1926, **27**, 138.
19. Bingham (J.), Meyer (O.) et Pohle (F.). — *Am. Journ. Med. Sc.*, 1941, **262**, 563.
20. Bjorneboe (M.), Gormsen (H.) et Lundquist (F.). — *Journ. Immun.*, 1947, **55**, 121.
21. Blitstein (I.). — *Le Sang*, 1947, **18**, 178.

22. Bloom (W.). — *Am. Nat.*, 1940, **74,** 129.
23. Bloor (W. R.). — *Journ. biol. Chem.*, 1932, **95,** 633.
24. Boivin (A.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29,** 136.
25. Boivin (A.) et Delaunay (A.). — *Pr. Med.*, 1946, **53,** 16.
26. Boku (S.). — *Journ. Chos. Med. Assoc.*, 1932, **22,** 1.
27. Boku (S.). — *Journ. Chos. Med. Assoc.*, 1933, **23,** 65.
28. Bordet (J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, **13,** 225.
29. Bordet (J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, **14,** 257.
30. Bordet (J.). — L'immunité dans les maladies infectieuses, 1 vol., Masson édit., Paris, 1939.
31. Bordet (J.), Gay et Gengou (O.). — Cité par Bordet [31].
32. Bourgain (M.). — *Arch. Med. Pharm. nav.*, 1945, **135,** 93.
33. Bouvrain (Y.). — *Pr. Med.*, 1945, **52,** 420.
34. Boyd (W. C.). — *Journ. Immunol.*, 1940, **38,** 143.
35. Boyd (W. C.). — *Journ. exp. Med.*, 1941, **74,** 369.
36. Boyd (W. C.). — *Journ. exp. Med.*, 1942, **75,** 407.
37. Boyd (W. C.). — *Journ. exp. Med.*, 1946, **83,** 221.
38. Boyd (W. C.). — *Journ. exp. Med.*, 1946, **83,** 401.
39. Boyd (W. C.). — *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, 1946, **46,** 927.
40. Boyd (W. C.). — Fundamentals of immunology, 1 vol., Interscience édit., New-York, 1947.
41. Boyd (E. M.) et Murray (R. B.). — *Journ. biol. Chem.*, 1937, **117,** 629.
42. Boyd (W. C.) et Tamura (J. T.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1938, **38,** 184 et 909.
43. Boyd (W. C.), Conn (J. B.), Gregg (D. C.), Kistiakowsky (G. B.) et Roberts (R. M.). — *Science*, 1940, **92,** 604.
44. Braun (B.). — *Folia Haematol.*, 1934, **53,** 27.
45. Breinl (F.) et Haurowitz (F.). — *Zeitschr. physiol. Chem.*, 1930, **192,** 45.
46. Breinl (F.) et Haurowitz (F.). — *Zeitschr. Immunitätsf.*, 1932, **77,** 176.
47. Bressler (S.) et Talmund (D.). — *Doklady Akad. Nank. U. S. S. R.*, 1944, **43,** 310, 314, 326 et 367.
48. Brocq (P.) et Stephanopoli (T.). — *Mem. Acad. Chir.*, 1947, **73,** 416.
49. Buchner (H.). — *Zentr. Bakt. Parasitol.*, 1889, **5,** 817 et **6,** 561.
50. Bugnard (L.), Miletski (O.) et Auvergnat (R.). — *Rev. Can. Biol.*, 1945, **4,** 452.
51. Bunting. — In Boivin et Delaunay (26).
52. Burchard. — Diss. Rostock, 1889.
53. Campbell (D. H.). — *Journ. inf. Diseases*, 1936, **59,** 266.
54. Cannon (P. R.). — *Journ. Immun.*, 1942, **44,** 107.
55. Cannon (P. R.). — *Journ. Am. diet. Assoc.*, 1944, **20,** 77.
56. Cannon (P. R.). — *Journ. Am. med Assoc.*, 1945, **128,** 360.

57. Cannon (P. R.), Chase (W. E.) et Wissler (R. W.). — *Journ. Immun.*, 1943, **47**, 133.
58. Carpenter (D. C.). — *Arch. Biochem.*, 1946, **9**, 159.
59. Casperson (T.) et Schultz (J.). — *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 1940, **26**, 507.
60. Casperson (T.) et Theorell (B.). — *Acta Physiol. Scand.*, 1942, **4**, 97.
61. Castagnou (R.). — Thèse Méd., Bordeaux, 1942.
62. Castle (W.). — *Am. Journ. Med. Sc.*, 1929, **178**, 748.
63. Castle (W.), Townsend (W.) et Heath (C.). — *Am. Journ. Med. Sc.*, 1930, **180**, 305.
64. Cayrol (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **193**, 446.
65. Cayrol (P.) et Genevois (L.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **192**, 1494.
66. Chevallier (P.) et Brumpt (L.). — *Le Sang*, 1939, **13**, 331.
67. Chevallier (P.) et Desmonts (T.). — *Soc. Path. comp.*, 1937, in *Le Sang*, 1938, **12**, 849.
68. Chevallier (P.) et Desmonts (T.). — *Soc. Path. comp.*, 1938, in *Le Sang*, 1938, **12**, 849.
69. Chow (B. F.) et Goebel (W. F.). — *Journ. exp. Med.*, 1935, **62**, 179.
70. Ciampi (N.). — *Il. Policl. Scz. Med.*, 1932, 7.
71. Copin (R.). — Thèse Méd., Bordeaux, 1936.
72. Cordier (G.) et Clavieras (J.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1948, sous presse.
73. Cotti (L.). — *Folia Haematol.*, **18**, 209.
74. Daft (S. F.), Robscheit-Robbins (F. S.) et Whipple (G. H.). — *Journ. biol. Chem.*, 1933, **103**, 495.
75. Danysz (J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, **16**, 331.
76. Davidson (L. S.), Fullerton (H. W.), Howig (J. W.), Croll (J. M.), Orr (J. B.) et Godden (W.). — *Brit. Med. Journ.*, 1933, **1**, 685.
77. Day (H. B.). — *Journ. Hyg.*, 1942, **42**, 532.
78. Dean (H. R.) et Webb (R. A.). — *Journ. Path. Bact.*, 1926, **29**, 473.
79. Dejust (S.) et Vaurs (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **102**, 510.
80. Dekkers (H. J.). — *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 1939, **83**, 1212.
81. Delage (B.). — *Bull. Soc. Chim. biol. (trav.)*, 1942, **24**, 1438.
82. Delaunay (D.), Lebrun (J.) et Delaunay (M.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1948, **226**, 133.
83. Dervichian (D.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1943, **217**, 299.
84. Dervichian (D.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1944, **70**, 291.
85. Dervichian (D.) et Grabar (P.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1942, **214**, 195.

86. Dervichian (D.) et Grabar (P.). — *Journ. Chim. phys.*, 1942, **39**, 159.
87. Dervillée (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **110**, 963.
88. Dougherty (T. F.), Chase (J. H.) et White (A.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1944, **56**, 28.
89. Dougherty (T. F.), Chase (J. H.) et White (A.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1944, **57**, 295.
90. Dougherty (T. F.), Chase (J. H.) et White (A.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1945, **58**, 135.
91. Dufrenoy (J.) et Genevois (L.). — *Ann. Nutr. Alim.*, 1947, **1**, 389.
92. Dumazet (C.). — *Ann. Nutr. Alim.*, 1947, **1**, 361.
93. Dumazet (C.) et Vermeulem (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 292.
94. Eagle (H.). — *Journ. Immun.*, 1930, **18**, 393.
95. Eagle (H.), Smith (D. E.) et Vickers (P.). — *Journ. exp. Med.*, 1936, **63**, 617.
96. Ehrich (W. E.) et Harris (T. N.). — *Journ. exp. Med.*, 1942, **76**, 335.
97. Ehrich (W. E.) et Harris (T. N.). — *Science*, 1945, **101**, 28.
98. Ehrlich (P.). — In Bordet (30).
99. Eisenberg et Wolk. — In Machebœuf (211).
100. Eisler (M. V.) et Lowenstein (E.). — *Centr. Bakt.*, 1912, **63**, 261.
101. Fagraeus (A. K.). — *Nature*, 1947, **159**, 499.
102. Faillie (R.), Jonnard (R.) et Zuckerkandl (F.). — *Biol. méd.*, 1938, **28**, 129.
103. Faure (M.), Lamy (R.) et Coulon (M. J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 19.
104. Feodorof (N.), Barouline (K.) et Namiatichef (A.). — *Le Sang*, 1936, **10**, 815.
105. Feuillié (E.). — *Le Sang*, 1929, **3**, 647.
106. Fiessinger (N.) et Laur (C. M.). — *C. R. Soc. Biol.*, cité par les auteurs (108).
108. Fiessinger (N.) et Laur (C. M.). — *Le Sang*, 1932, **6**, 316.
109. Fishberg (E. H.). — *Journ. biol. Chem.*, 1929, **81**, 675.
110. Fishberg (E. H.) et Fishberg (A. M.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1928, **25**, 296.
111. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1930, **6**, 658.
112. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1933, **7**, 209.
113. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1933, **7**, 341.
114. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1933, **7**, 455.
115. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1934, **8**, 741.
116. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1934, **8**, 523.
117. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1936, **10**, 144.
118. Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *Le Sang*, 1936, **10**, 1056,

119. Forsmann (J.). — *Biochem. Zeitschr.*, 1924, **148**, 160; *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 47 et *Acta Path. Microb. Scand.*, 1925, **1**, 5.
120. Fraenkel-Conrat (H. L.) et Olcott (H. S.). — *Journ. Am. chem. Soc.*, 1946, **68**, 34.
121. Freymann (M.) et Freymann (R.). — *Bull. Soc. Chim.*, 1937, 944.
122. Friedberger (S.) et Goldsmith (S.). — *Zeitschr. Immunitätsf.*, 1910, **6**, 299.
123. Gajdos (A.). — *Le Sang*, 1947, **18**, 114.
124. Gajdos (A.). — *Le Sang*, 1947, **18**, 184.
125. Gajdos (A.) et Erkeltyan (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 1045.
126. Genevois (L.), Cayrol (P.) et Nicolaieff (T.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **112**, 1832.
127. Genevois (L.) et Mandillon (G.). — *Bull. Soc. Chim.*, 1935, 683.
128. Genevois (L.) et Mandillon (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **68**, 1353.
129. Genevois (L.) et Nicolaieff (T.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **112**, 1385.
130. Glenny (A. T.) et Barr (M.). — *Journ. Path. Bact.*, 1932, **35**, 91.
131. Glenny (A. T.), Pope (C. G.) et Waddington (H.). — *Journ. Path. Bact.*, 1925, **28**, 279.
132. Gondard (L.). — *Montpellier Méd.*, 1934, **6**, 371.
133. Grabar (P.). — Les globulines du sérum sanguin, 1 vol., Desoer et Masson édit., Liège, Paris, 1947.
134. Grabar (P.) et Dervichian (D.). — *Ann. Inst. Pasteur.*, 1942, **68**, 74.
135. Grégoire (J.). — Thèse Sciences, Paris, 1945.
136. Grégoire (J.), Machebœuf (M.), Grabar (P.) et Lépine (P.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 432.
137. Grimberg (A.), Chamraeff (M.) et Pellier (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, 699.
138. Grimberg (A.) et Krauss (M.). — *Pr. Méd.*, 1939, **46**, 158.
139. Grimberg (A.), Mutermilch (S.) et Agasse-Lafont (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **123**, 1045.
140. Guha (B. C.) et Mapson (L. W.). — *Biochem. Journ.*, 1931, **25**, 1674.
141. Gustavson (K. H.). — *Svenskkem.*, 1940, **52**, 261.
142. Haam (E. Von) et Hehre (E.). — *Journ. Immun.*, 1942, **43**, 109.
143. Hahn (P. F.) et Whipple (G. M.). — *Am. Journ. Med. Sc.*, 1936, **191**, 24.
144. Halban (J.) et Landsteiner (K.). — *Centr. Orig.*, 1902, **32**, 457.

145. Hardy (W. B.) et Gardiner (S.). — *Journ. Physiol.*, 1910, **40**, LXVIII.
146. Harris (T. N.) et Ehrich (W. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1946, **84**, 157.
147. Harris (T. N.), Grimm (P.), Mertens (E.) et Ehrich (W. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1945, **81**, 73.
148. Hartley (P.). — *Brit. Journ. exp. Path.*, 1925, **6**, 180.
149. Haurowitz (F.). — *Journ. Immun.*, 1943, **47**, 111.
150. Haurowitz (F.) et Schwerin (P.). — *Brit. Journ. exp. Path.*, 1942, **23**, 146.
151. Haurowitz (F.) et Schwerin (P.). — *Journ. Immun.*, 1943, **47**, 111.
152. Haurowitz (F.) et Sladex (J.). — *Zeitschr. physiol. Chem.*, 1928, **173**, 268.
153. Hedenius (P.). — *Lancet*, 1937, **233**, 1186.
154. Heidelberger (M.). — *Bact. Rev.*, 1939, **3**, 49.
155. Heidelberger (M.), Grabar (P.) et Treffers (H. F.). — *Journ. exp. Med.*, 1938, **68**, 913.
156. Heidelberger (M.) et Hobby (G. L.). — *Proc. Nation. Acad. Sc.*, 1942, **28**, 516.
157. Heidelberger (M.) et Kendall (F. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1931, **53**, 625.
158. Heidelberger (M.) et Kendall (F. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1932, **55**, 555.
159. Heidelberger (M.) et Kendall (F. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1933, **58**, 137.
160. Heidelberger (M.) et Kendall (F. E.). — *Journ. exp. Med.*, 1935, **62**, 697.
161. Heidelberger (M.), Treffers (H. F.) et Freund. — *Fed. Proc.*, 1942, **1**, 178.
162. Heidelberger (M.), Treffers (H. F.) et Mayer (M.). — *Journ. exp. Med.*, 1940, **71**, 271.
163. Heidelberger (M.), Weil (A. J.) et Treffers (H. F.). — *Journ. exp. Med.*, 1941, **73**, 695.
164. Hektoen (L.). — *Journ. Inf. Diseases*, 1915, **17**, 415.
165. Henry. — *Soc. Path. comp.*, 1937, in *Le Sang*, 1938, **12**, 849.
166. Hofer (E.). — *Acta Biol. exp.*, 1938, **12**, 70; d'après *Chem. Abstr.*, 1939, **33**, 6351.
167. Holmès et Yale (T.). — *Journ. Biol. Med.*, 1941, **14**, 145.
168. Hooker (S. B.) et Boyd (W. C.). — *Journ. Immun.*, 1937, **33**, 337.
169. Hooker (S. B.) et Boyd (W. C.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1941, **47**, 187.
170. Hoppe-Seyler (F.). — *Zeitschr. physiol. Chem.*, 1885, **9**, 34.
171. Horsfall (F. L.) et Goodner (K.). — *Journ. exp. Med.*, 1935, 62, 485.

172. Horsfall (F. L.) et Goodner (K.). — *Journ. exp. Med.*, 1936, **64**, 583.
173. Houdemer (E.). — *Rev. Véter.*, 1935, in *Le Sang*, 1936, **10**, 958.
174. Huff (C. G.). — *Physiol. Rev.*, 1940, **20**, 68.
175. Inouye (D.). — *Fukuoka Ikwdaigaku-Zasski*, 1933, **26**, 13.
176. Inouye (D.). — *Fukuoka Ikwdaigaku-Zasski*, 1933, **26**, 16.
177. Iwanoff (K.). — *Zeitschr. Hyg.*, 1936, **118**, 495.
178. Jacotot (H.). — *Rev. Immun.*, 1947, **11**, 113.
179. Jacotot (H.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1939, **210**, 376.
180. Jacotot (H.). — *C. R. Acad Sc.*, 1947, **224**, 1390.
181. Jansen (F.) et Jensen (K. A.). — *Zeitschr. physiol. Chem.*, 1942, **277**, 66.
182. Kamagota (K.). — *Tohoku Journ. exp. Med.*, 1937, **31**, 124.
183. Kaminer (S.) et Rohnstein (R.). — *Klin. Wochschr.*, 1900, 687.
184. Kaula (N. K. Von). — Cité par Bouvrain (33).
185. Keil (H. L.) et Nelson (V. E.). — *Journ. biol. Chem.*, 1932, **47**, 115.
186. Ker (W. J.), Hurwitz (S. H.) et Whipple (C. H.). — *Am. Journ. Physiol.*, 1918, **47**, 379.
187. Kobayashi (T.). — *Le Sang*, 1929, **3**, 129.
188. Kourilsky (R.) et Mercier (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, 1267.
189. Kraus (R.). — XIV[e] Congrès Intern. Méd., 1907.
190. Lafontaine (A.) et Gajdos (A.). — *Le Sang*, 1947, **18**, 242.
191. Lambin (P.) et Cornil (B.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **107**, 264.
192. Landsteiner (K.). — The specificity of serological reactions, 1 vol., Harvard University Press édit., Cambridge (U. S. A.), 1945.
193. Landsteiner (K.) et Welecki (S.). — *Zeitschr. Immunitätsf.*, 1911, **8**, 397.
194. Langeron (M.). — Précis de Microscopie, 1 vol., Masson édit., Paris, 1942.
195. Le Breton (E.) et Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 36.
196. Le Breton (E.) et Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 38.
197. Lecomte du Noüy (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **90**, 168.
198. Lehmann (J.). — *Lancet*, 1943, **264**, 611.
199. Lemetayer (E.). — *Rev. Immun.*, 1940-1941, **6**, 322.
200. Lemetayer (E.). — *Rev. Immun.*, 1940-1941, **6**, 404.
201. Lemetayer (E.), Nicol (L.), Mathieu, Girard (O.) et Corvazier (R.). — *Bull. Acad. Méd.*, 1946, **130**, 583.
202. Leya (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 194.
203. Liebermann (L.). — *Ber. Chem. Ges.*, 1885, **185**, 1803.
204. Linderström-Lang (K.) et Schmidt (F.). — *C. R. Lab. Carlsberg*, 1930, **18**, 1.

205. Loeper (M.), Decourt (J.), Olivier (J.) et Lesure (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 271.
206. Loiseleur (J.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, **68**, 439.
207. Loiseleur (J.). — Techniques de laboratoire. 1 vol., Masson édit., Paris, 1947.
208. Loiseleur (J.) et Levy (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1947, **73**, 116.
209. Loiseleur (J.), Pérez (J. J.) et Sergent (C.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1946, **72**, 843.
210. Loosli (C. G.). — *Journ. exp. Med.*, 1942, **75**, 657.
211. Machebœuf (M.). — *Schweiz. Zeitschr. Path. Bakt.*, 1946, **9**, 466.
212. Machebœuf (M.), Le Monze (M.) et Duhart (M.). — In Machebœuf. *Gaz. Sc. Méd. Bordeaux*, 1939, **60**, 435.
213. Machebœuf (M.) et Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 1184.
214. Machebœuf (M.) et Tayeau (F.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1938, **206**, 860.
215. Machebœuf (M.), Viscontini (M.) et Raynaud (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, **68**, 495.
216. Mac Kibbin (J. M.) et Stare (F. J.). — *Journ. Am. Diet. Assoc.*, 1943, **19**, 331.
217. Marrack (J. R.). — The chemistry of antigens and antibodies, 1 vol., His Magesty's Stationnary Office édit., London, 1938.
218. Martin (M.). — Thèse dot. Univ. (Pharm.), Bordeaux, 1944.
219. Mac Master (P. D.) et Hudack (S. S.). — *Journ. exp. Med.*, 1935, **61**, 783.
220. Mac Master (P. D.) et Kidd (J. G.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1936, **34**, 547.
221. Mauriac (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1912, **73**, 675.
222. Mauriac (P.), Servantie (L.) et Demenier (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 177.
223. Mauriac (P.), Servantie (L.) et Demenier (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 558.
224. Maximow (A. A.). — *Beit. Pathol. Anat.*, 1902, suppl. **5**, VII.
225. Maximow (A. A.). — *Arch. exp. Zellf.*, 1928, **5**, 169.
226. Meyer (K.) et Lowenthal (H.). — *Zeitschr. Immunit. exp. Ther.*, 1928, **54**, 409.
227. Millet (M.). — *Arch. Intern. Méd. exp.*, 1937, **12**, 437.
228. Mitchell (H. S.) et Miller (L.). — *Journ. biol. Chem.*, 1931, **92**, 421.
229. Modlinger (P.). — *Ozvosi Hetilap.*, 1937, **81**, 244.
230. Morawitz et Itami. — In Kobayashi (187).
231. Moulinier (J.). — Thèse Méd., Bordeaux, 1946.
232. Mudd (S.) et Joffre (E. W.). — *Journ. gen. Physiol.*, 1933, **16**, 947.

233. Murphy et Sturm. — In Boivin et Delaunay (25).
234. Neuschloss (S. M.). — *Biochem. Zeitschr.*, 1930, **225**, 115.
235. Neuzil (E.). — Thèse Méd., Bordeaux, 1948.
236. Neuzil (E.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 186.
237. Neuzil (E.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 188.
238. Nicolle (C.) et Ducloux (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 904.
239. Nicolle (C.) et Ducloux (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 906.
240. Niederhausern, Gambigliari et Zoccoli. — *Arch. Sc. biol.*, 1937, **2**, 150.
241. Northrop (J. H.). — *Proc. Am. Phil. Soc.*, 1941, **85**, 13.
242. Okamoto (M.). — *Journ. Orient. Med.*, 1932, **17**, 7.
243. Okamoto (M.). — *Journ. Orient. Med.*, 1932, **17**, 10.
244. Okamoto (M.). — *Journ. Orient. Med.*, 1936, **24**, 26.
245. Orten (A. M.) et Orten (J. M.). — *Journ. Nutrit.*, 1941, **30**, 137.
246. Ozawa (T.). — *Bull. Sericult.*, 1940, **12**, 56.
247. Pagniez. — *In* Nicolle et Ducloux (238).
248. Pappenheimer (A. M. Jr.). — *Journ. exp. Med.*, 1940, **71**, 263.
249. Pauling (L.). — *Journ. Am. chem. Soc.*, 1940, **62**, 2 et 643.
250. Pauling (L.). — *Journ. Am. chem. Soc.*, 1940, **62**, 2640.
251. Pautrizel (R.) et Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 306.
252. Pautrizel (R.) et Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1948, sous presse.
253. Pedersen (K. O.). — The Svedberg, vol. jubilaire, 1 vol., Almquist et Wiksells Boktryckeri ab édit., Uppsala, 1945, p. 490.
254. Petermann (M. L.). — *Journ. Am. chem. Soc.*, 1946, **68**, 105.
255. Peyre (E. L.). — *Le Sang*, 1938, **12**, 229.
256. Pittaluga (G.). — *Le Sang*, 1940, **14**, 264.
257. Polonovski (J.), Faure (M.) et Machebœuf (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1946, **72**, 67.
258. Pons (R.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1941, **67**, 383.
259. Pons (R.). — *Rev. Immun.*, 1942, **7**, 222.
260. Pressman (D.) et Grossberg (A. L.). — *Science*, 1945, **101**, 254.
261. Ramon (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 711.
262. Ramon (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **97**, 635.
263. Ramon (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 539.
264. Ramon (G.). — *Rev. Immun.*, 1940-1941, **6**, 65.
265. Ramon (G.). — *Rev. Immun.*, 1943, **8**, 1.

266. Ramon (G.), Bonnet (H.), Nelis (P.), Richou (R.) et Thiefry (S.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **119**, 790.
267. Ramon (G.) et Richou (R.). — *Rev. Immun.*, 1940, **6**, 5.
268. Ramon (G.) et Richou (R.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1948, sous presse.
269. Ranque (J.). — Thèse Méd., Marseille, 1942.
270. Ranson (M. A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **14**, 1218.
271. Ravetta (M.). — *Fol. Haemat.*, **18**, 69.
272. Reinert (M.) et Winterstein (A.). — *Arch. Int. Pharm. Thér.*, 1939, **62**, 47.
273. Rey. — *In* Taliaferro (W. H.). *Rev. Kuba*, 1947, **3**, 150.
274. Rider (T. H.). — *Journ. biol. Chem.*, 1933, **50**, 243.
275. Rieux (J.), Carosse et Delmotte (M.). — *Rev. Méd.*, 1931, **48**, 581.
276. Rminger (E.) et Bomskow (C.). — *Zeitschr. exp. Med.*, 1933, **89**, 818.
277. Rose (M. S.) et Vahlteich (E. M. C.). — *Journ. biol. Chem.*, 1932, **96**, 593.
278. Rothen (A.). — *Journ. gen. Physiol.*, 1942, **25**, 1487.
279. Roux (E.) et Vaillard (L.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1893, **7**, 65.
280. Ruchmann (I.). — *Journ. Immun.*, 1946, **53**, 51.
281. Sabin (F. R.). — *Journ. exp. Med.*, 1939, **70**, 67.
282. Sabrazes (J.), Bourret (R.) et Léger (M.). — *Journ. Physiol. Path. gén.*, 1900, **2**, 941.
283. Saias (E.). — Thèse Pharm., Paris, 1942.
284. Salomonsen (C. J.) et Madsen (T.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1898, **12**, 763.
285. Sandor (G.). — *Rev. Immun.*, 1946, **10**, 158.
286. Sandor (G.) et Goldie (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **126**, 295.
287. Sandor (G.) et Goldie (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 391.
288. Sappington (S. W.). — *Journ. Am. med. Assoc.*, 1939, **113**, 22.
289. Schmidt (H. W.). — *Nozving Lekarskie*, 1933, **46**, 22.
290. Schmidt (P.). — *Arch. Hyg.*, 1907, **63**, 1.
291. Schmidt (S.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1928, **42**, 63.
292. Schmidt (S.). — *Zeitschr. Immun.*, 1930, **67**, 197.
293. Schmidt (S.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **103**, 101.
294. Schmidt (S.) et Jensen (C.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **108**, 566.
295. Schroder. — *Journ. Med. Research.*, 1923.
296. Sedallian (P.) et Clavel (C.). — *Rev. Immun.*, 1944-1945, **9**, 89.
297. Sedallian (P.), Jourdan (J.) et Clavel (C.). — *Rev. Immun.*, 1938, **4**, 211.

298. Sedallian (P.), Jourdan (J.) et Clavel (C.). — *Rev. Immun.*, 1938, **4**, 216.
299. Sedallian (P.), Jourdan (J.) et Clavel (C.). — *Rev. Immun.*, 1938, **4**, 503.
300. Seibert (F.) et Nelson (J.). — *Journ. Am. chem. Soc.*, 1943, **65**, 272.
301. Selye (H.). — *Ann. Endoc.*, 1946, **7**, 289.
302. Selye (H.) et Foglia (V. G.). — *Am. Journ. Anat.*, 1939, **64**, 133.
303. Sidgwick (N. V.). — La théorie électronique de la valence, 1 vol., Oxford, 1927.
304. Smith (F. C.) et Marrack (J. R.). — *Brit. Journ. exp. Path.*, 1930, **11**, 494.
305. Soi Ryo. — *Journ. Orient. Med.*, 1937, **27**, 24.
306. Sreng (O.). — *Zeitschr. Hyg. Infektionkrankh.*, 1909, **62**, 281.
307. Taliaferro (W. H.) et Sarles (M. P.). — *Journ. Inf. Diseases*, 1939, **64**, 157.
308. Tayeau (F.). — Thèse Sciences, Bordeaux, 1939.
309. Tayeau (F.). — *Bull. trav. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1943, **81**, 63 et *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 63.
310. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 287.
311. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 293.
312. Tayeau (F.). — Thèse Méd., Bordeaux, 1944 et *C. R. Acad. Sc.*, 1941, **212**, 575.
313. Tayeau (F.) et Neuzil (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 509.
314. Tayeau (F.), Neuzil (E.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 191.
315. Tayeau (F.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1947, **224**, 75.
316. Tayeau (F.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 308.
317. Tayeau (F.) et Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, sous presse.
318. Taylor (E. L.). — *Endeavour*, 1944, **3**, 150.
319. Thacher Clark (H.). — *Chem. Soc.*, 1910, **97**, 416.
320. Thalhimer (W.), Solandt (D.) et Best (C.). — *Lancet*, 1938, **235**, 554.
321. Theis (E. R.). — *Journ. biol. Chem.*, 1944, **154**, 87.
322. Theodorides (T.). — Thèse Sciences, Paris, 1931.
323. Tiselius (A.) et Kabat (E. A.). — *Journ. exp. Med.*, 1939, **69**, 119.
324. Tötterman (G.). — *Nord. med. Tidsskrift*, 1937, **14**, 1320.
325. Tulasne (R.). — *Arch. Phys. biol.*, 1942, **16** (Sp.), 3.
326. Tyler (J. A.). — *Journ. Immun.*, 1945, **51**, 157.
327. Van der Scheer, Wickoff et Clarke. — *Journ. Immun.*, 1940, **39**, 65.

328. Vauchan (J. M.). — *Lancet*, 1932, **222**, 122.
329. Velluz (L.). — *Journ. Pharm. Chim.*, 1932, **15**, 400.
330. Velu (H.). — *Soc. Pathol. Comp.*, 1937, in *Le Sang*, 1938, **12**, 850.
331. Vilia (L.). — *Arch. Intern. Pharm.*, 1931, **41**, 430.
332. Viscontini (M.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1944, **219**, 92, 112 et 161.
333. Watson (C. J.). — *Folia Haematol.*, 1928, **37**, 70.
334. Weller (G.). — *Le Sang*, 1938, **12**, 220.
335. Whipple (G. H.). — *Surg. Gyn. Obst.*, 1930, **50**, 244.
336. Whitby (L. E.) et Britton (C. J.). — 1 vol., Churchill édit., London.
337. White (A.) et Dougherty (T. F.). — *Proc. Soc. exp. Med. Biol.*, 1944, **56**, 26.
338. White (A.) et Dougherty (T. F.). — *Endocrinol.*, 1945, **36**, 207.
339. Wissler (R. W.), Woolridge (R. L.) et Steffee (C. H.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1946, **62**, 199.
340. Wissler (R. W.), Woolridge (R. L.), Steffee (C. H.) et Cannon (P. R.). — *Journ. Immun.*, 1946, **52**, 267.
341. Yasuo (Iida). — *Trans. Soc. Path. Japon*, 1937, **27**, 241.
342. Zaepffec (H.). — *Bull. Acad. Méd.*, 1935, **113**, 679.
343. Zih (A.). — *Arch. ges. Physiol.*, 1930, **225**, 613.
344. Zih (A.). — Rapports au Congrès de Pyrmont, 1939, cité par Courtial (J.). *Le Sang*, 1942-1943, **15**, 365.
345. Zunz (E.). — *In* Roger (H.) et Binet (L.). Traité de physiologie normale et pathologique, 8 vol., Masson édit., Paris, 1932.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE

Notions fondamentales sur les anticorps.

CHAPITRE PREMIER. — LES ANTICORPS DANS L'IMMUNITÉ 7

I. — Antitoxines 8

II. — Agglutinines 9

III. — Sensibilisatrices 9

IV. — Hémolysines 9

V. — Précipitines 10

CHAPITRE II. — NATURE DES ANTICORPS 12

CHAPITRE III. — GENÈSE DES ANTICORPS 16

I. — Facteurs influençant l'élaboration des anticorps .. 17

II. — Organes formateurs 18

III. — Mécanisme de formation 23

IV. — Mécanisme de libération 25

CHAPITRE IV. — RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS 27

I. — Première phase 27

II. — Deuxième phase 28

a) Neutralisation des toxines et virus 29

b) Fixation du complément 30

c) Bactériolyse. Hémolyse 30

d) Agglutination 30

e) Précipitation 31

DEUXIÈME PARTIE

Recherches expérimentales.

Pages

CHAPITRE PREMIER. — ESSAIS PRÉLIMINAIRES. A LA RECHERCHE DE TECHNIQUES APPROPRIÉES A NOS EXPÉRIENCES 37

I. — Modalités de production d'anticorps chez le Lapin. 38

II. — Immunisation de Lapins avec du sérum de Cheval. 40

III. — Sur la production d'anémie chez le Lapin 41

a) Par destruction 41

b) Par soustraction 42

c) Par prélèvement de sang 43

IV. — Titration des anticorps 46

V. — Analyses effectuées sur le sang de Lapin 49

a) Numération des hématies 49

b) Dosages des protéides, des lipides et du cholestérol 49

CHAPITRE II. — SUR LE RÔLE DE L'ANÉMIE DANS LA PRODUCTION DES ANTICORPS 50

I. — Protocole expérimental 51

II. — Les anticorps chez le Lapin en cours d'anémie .. 53

III. — La régénération globulaire chez le Lapin 61

IV. — La régénération plasmatique chez le Lapin 72

V. — Discussion et interprétation de nos résultats concernant le rôle de l'anémie dans la production des anticorps 83

CHAPITRE III. — RÉACTIVITÉ ET AVIDITÉ DES ANTICORPS 86

Interprétation 92

CHAPITRE IV. — LES LIPIDES DANS LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS. 94

I. — Lipides et propriétés floculantes 94

II. — Cholestérol et propriétés floculantes 96

III. — Cénapses lipidoprotéidiques et propriétés floculantes 97

IV. — Phosphatides et propriétés floculantes 99

V. — Lécithase et immunsérums 101

Pages

CHAPITRE V. — ACTION DE CERTAINS RÉACTIFS SUR LA RÉACTIVITÉ DES ANTICORPS 104

I. — Le monobromacétate de sodium dans la réaction sérum de Cheval-antisérum de Lapin 104

a) Etude de la zone d'équivalence 105

b) Influence des proportions variables d'antigène et d'anticorps 108

II. — Le formol dans la réaction sérum de Cheval-antisérum de Lapin 110

III. — Interprétation générale 113

IV. — Action comparée du monobromacétate de sodium et du formol dans la réaction sérum de Cheval-antisérum de Lapin 114

CONCLUSIONS 121

BIBLIOGRAPHIE 125

Bordeaux. — Imp. E. DROUILLARD, place de la Victoire, 3.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ :

LA CULTURE DES ENTAMŒBA PARASITES DE L'INTESTIN DE L'HOMME

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
L. GENEVOIS.

Vu et approuvé :
Le Doyen,
G. BRUS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 4 Juin 1948.
Pour le Recteur de l'Académie :
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
G. BRUS.